

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:

Invenzione Industriale

N.

TO2002 A 000808



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

11 NOV. 2003

Re

IL DIRIGENTE

Paola Giuliano

Dr.ssa Paola Giuliano

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA
MODULO A
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO**A. RICHIEDENTE (I)**

1) Denominazione STMICROELECTRONICS S.R.L. N.A. IS.R
Residenza AGRATE BRIANZA (MI) codice 00951900968
2) Denominazione _____
Residenza _____ codice _____

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome CERBARO Elena e altri cod. fiscale _____
denominazione studio di appartenenza STUDIO TORTA S.r.l.
via Viotti n. 10,00,9 città TORINO cap 1,0,1,2,1 (prov) TO

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci) _____

gruppo/sottogruppo _____

DISPOSITIVO INTEGRATO DI ANALISI DEL DNAANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☐

SE ISTANZA: DATA _____

N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) ISCURATI Mario 3) PALMIERI Michele
2) MASTROMATTEO Ubaldo 4) _____

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R**SCIoglimento RISERVE**

Data

N° Protocollo

1) _____
2) _____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione**H. ANNOTAZIONI SPECIALI****DOCUMENTAZIONE ALLEGATA**

N. es.

Doc. 1) 2 PROV n. pag. 3,2 riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) _____
Doc. 2) 2 PROV n. tav. 10,9 disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) _____
Doc. 3) 1 RIS lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale _____
Doc. 4) 1 RIS designazione inventore _____
Doc. 5) 1 RIS documenti di priorità con traduzione in italiano _____
Doc. 6) 1 RIS autorizzazione o atto di cessione _____
Doc. 7) 1 nominativo completo del richiedente _____

SCIoglimento RISERVE

Data

N° Protocollo

confronta singole priorità

8) attestati di versamento, totale Euro Duecentonovantuno/80

obbligatorio

COMPILATO IL 17 09 2002

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Elena CerbaroCONTINUA SINO N.OCERBARO ElenaDEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SINO SICAMERA DI COMMERCIO IND. ART. AGR. DI TORINOcodice 101

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

2002A000808L'anno duemiladueil giorno diecisettedel mese di settembreIl (I) richiedente (I) sopraindicato (I) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata da 10,9 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.**I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE**

IL DEPOSITANTE

STUDIO TORTAAndrea Torta

ufficio

L'UFFICIALE SOLO

Daniela

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA



2002 A 000 808

REG. A

DATA DI DEPOSITO 17/09/2002

DATA DI RILASCIO

A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

STMICROELECTRONICS S.R.L.

Residenza

AGRATE BRIANZA (MI)

D. TITOLO

DISPOSITIVO INTEGRATO DI ANALISI DEL DNA

Classe proposta (sez./cl./scl.)

(gruppo/sottogruppo)

L. RIASSUNTO

Un dispositivo integrato di analisi del DNA, avente un supporto (10) e un primo serbatoio (8), per l'immissione di un campione biologico grezzo, include almeno un canale di pretrattamento (17), una camera di amplificazione (21) e una camera di rilevamento (24), portati dal supporto (10) e in collegamento fluido fra loro e con il serbatoio (8).

M. DISEGNO

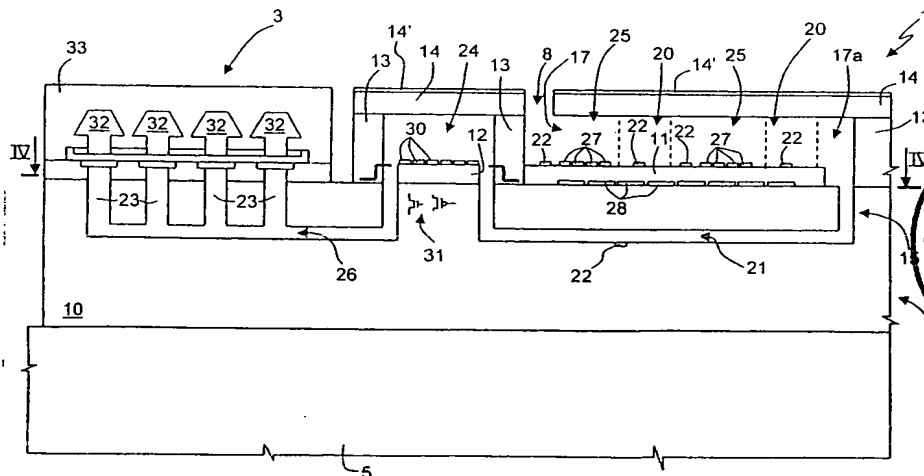


Fig.3



C.C.I.A.A.
Torino

D E S C R I Z I O N E

del brevetto per invenzione industriale

di STMICROELECTRONICS S.R.L.

di nazionalità italiana,

con sede a 20041 AGRATE BRIANZA (MILANO) - VIA C. OLIVETTI, 2

Inventori: SCURATI Mario, MASTROMATTEO Ubaldo, PALMIERI

Michele

17 SET. 2002 *** **

10 2002 A000808

La presente invenzione si riferisce ad un dispositivo integrato di analisi del DNA.

Come è noto, le procedure che vengono attualmente utilizzate per la lettura di segmenti di DNA prevedono l'esecuzione di diverse operazioni a partire da campioni di materiale biologico grezzo, ad esempio sangue.

In particolare, il campione deve essere inizialmente purificato, mediante filtrazione meccanica o per via elettrostatica, in modo da eliminare tutte le cellule non nucleate, che non sono utili al fine dell'analisi del DNA. Quindi, i nuclei delle cellule rimaste nel campione purificato vengono rotti mediante un processo chimico o termico, per poter prelevare segmenti di DNA da analizzare (lisi dei nuclei). Successivamente, i filamenti che compongono le molecole di DNA vengono separati gli uni dagli altri attraverso una ciclatura termica oppure mediante processi biochimici.

CERBAS C. Eleno
Iscrizione Albo nr 426/BM

Mediante un procedimento PCR ("Polimerase Chain Reaction") i campioni vengono poi amplificati, ossia i segmenti di DNA presenti vengono moltiplicati e nuovamente separati in singoli filamenti, che vengono infine analizzati. In questa fase, il campione contenente i filamenti amplificati e separati viene fatto fluire su un dispositivo di rilevamento comprendente una pluralità di detettori, formati da singoli filamenti preselezionati, del tipo che si vuole rilevare, e ancorati su elettrodi. Se nel campione sono presenti filamenti di DNA complementari rispetto a quelli dei detettori, fra gli uni e gli altri si formano legami stabili (ibridizzazione). I detettori ibridizzati possono essere letti mediante osservazione al microscopio oppure elettronicamente.

Normalmente, le fasi di analisi del DNA sopra descritte possono essere eseguite solo utilizzando diversi dispositivi, ognuno dei quali presiede a una parte del processo. In altre parole, le apparecchiature di analisi del DNA note comprendono più dispositivi fra loro separati, cosicché il campione analizzato deve essere trasferito da un dispositivo a un altro, una volta che una data fase di processo si è conclusa; al più, sono note apparecchiature dotate di dispositivi integrati per eseguire le fasi PCR e di detezione. In ogni

CERCA Oland
(Sezione A/c n° 426/BM)

caso, quindi, occorre prevedere connessioni microfluidiche rimovibili fra diversi dispositivi, oltre a una micropompa esterna per la movimentazione del fluido campione.

L'impiego di dispositivi separati e di connessioni microfluidiche rimovibili comporta però degli inconvenienti. Infatti, la micropompa e le connessioni microfluidiche sono di difficile realizzazione e sono spesso causa di perdite ("leakage"). Soprattutto le micropompe del tipo a membrana, che sono le più comunemente utilizzate, e le valvole associate alle micropompe soffrono di scarsa ermeticità. Di conseguenza, occorre elaborare una quantità di fluido campione cospicua, in quanto una parte non trascurabile viene dispersa. In pratica, è necessario disporre di diversi millilitri di fluido campione per poter ottenere un'analisi significativa. Altri tipi di pompe, invece, come ad esempio le pompe a pistone servoassistite o ad azionamento manuale, hanno migliori qualità di tenuta, ma non sono attualmente integrabili su scala micrometrica.

L'impiego di elevate quantità di fluido campione è svantaggioso sia per il costo, sia perché i tempi di lavorazione, in particolare la durata delle ciclature termiche, sono più lunghi. Molto spesso, poi, ai tempi effettivi di esecuzione delle diverse fasi del processo

CERBANO E. and
Division ABC n° 426/BM

di analisi si devono sommare tempi morti in cui il supporto contenente il campione da analizzare viene trasferito da un dispositivo a un altro. In questi casi, devono inoltre intervenire operatori qualificati, dato che la manipolazione dei campioni richiede un alto livello di specializzazione, e nascono problemi per la protezione e la conservazione del prodotto intermedio ottenuto.

Scopo della presente invenzione è realizzare un dispositivo di analisi del DNA, che sia privo degli inconvenienti descritti.

Secondo la presente invenzione viene realizzato un dispositivo integrato di analisi del DNA, come definito nella rivendicazione 1.

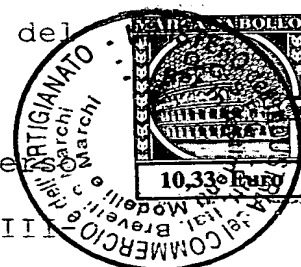
Per una migliore comprensione dell'invenzione, ne vengono ora descritte alcune forme di realizzazione, a puro titolo di esempio non limitativo e con riferimento ai disegni allegati, nei quali:

- la figura 1 è una vista prospettica di tre quarti dall'alto di un dispositivo integrato secondo una prima forma di realizzazione dell'invenzione;

- la figura 2 è una vista in pianta dall'alto del dispositivo di figura 1;

- la figura 3 è una sezione trasversale attraverso il dispositivo di figura 1, presa secondo la linea III-III

CERCAIO 3500
Indirizzo: ALTO DI LIO/PAA



III di figura 2;

- la figura 4 è una vista in pianta dall'alto del dispositivo di figura 1, sezionato lungo la linea IV-IV di figura 3;

- la figura 5 è una vista in scala ingrandita di un particolare di figura 3;

- la figura 6 è una vista dal basso del particolare di figura 5, sezionato lungo la linea VI-VI di figura 5;

- la figura 7 è uno schema circuitale semplificato relativo al dispositivo di figura 1;

- la figura 8 è una vista in pianta dall'alto di un dispositivo integrato in una seconda forma di realizzazione della presente invenzione;

- la figura 9 è una sezione trasversale del dispositivo di figura 8, presa secondo la linea IX-IX di figura 8;

- le figure 10-13 sono sezioni trasversali attraverso una fetta semiconduttrice, in successive fasi di un processo per la fabbricazione di una prima parte del dispositivo secondo la presente invenzione; e

- le figure 14-21 sono sezioni trasversali attraverso una fetta semiconduttrice, in successive fasi di un processo per la fabbricazione di una seconda parte del dispositivo secondo la presente invenzione.

Ufficio Italiano
Brevetti e Marchi
Bo. n. 426/BAI

Come mostrato in figura 1, Un dispositivo integrato di analisi del DNA (Lab-On-Chip), indicato nel suo complesso con il numero di riferimento 1, comprende un microreattore 2 e una micropompa 3. Il microreattore 2 è portato su una scheda PCB 5, dotata di un'interfaccia 6 per la connessione a un dispositivo di pilotaggio e lettura, di tipo e qui non illustrato; in particolare, sull'interfaccia 6 sono realizzati piedini 7 di ingresso/uscita del microreattore 2 e della micropompa 3.

Il microreattore 2 ha un serbatoio campione 8 e una pluralità di serbatoi reagenti 9 (due nell'esempio illustrato), aperti su una faccia 2a opposta alla base PCB 5 e accessibili dall'esterno. La micropompa 3 è saldata ermeticamente sul microreattore 2 (si veda anche la figura 2).

Con riferimento alle figure 3 e 4, il microreattore 2 comprende un primo corpo 10 di materiale semiconduttore, ad esempio silicio monocristallino, sopra al quale sono realizzate una prima e una seconda base 11, 12 di ossido di silicio e una struttura di contenimento 13 in materiale polimerico, ad esempio SU-8. A sua volta, la struttura di contenimento 13 è ricoperta da una lastra protettiva 14 aperta in corrispondenza del serbatoio campione 8 e dei serbatoi reagenti 9. La lastra protettiva 14 è realizzata con un materiale trasparen-

CERBARO E&O
(versione 4/95 n° 426/DM)

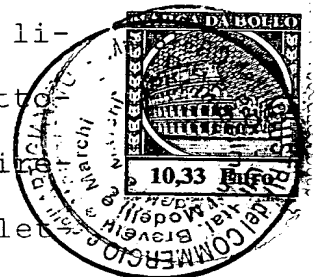
te, ricoperto con una pellicola conduttiva 14' anch'essa trasparente, ad esempio di ITO (Indium Tin Oxide); in alternativa, la lastra protettiva 14 è di vetro conduttivo. Un circuito idraulico 15 è definito all'interno della struttura di contenimento 13 e del primo corpo 10. Più in dettaglio, un canale di pretrattamento 17, delimitato lateralmente dalla struttura di contenimento 13, superiormente dalla lastra protettiva 14 e inferiormente dalla prima base 11, si dirama dal serbatoio campione 8 e si estende in modo sostanzialmente rettilineo in direzione opposta alla micropompa 3. Canali reagenti 18 di lunghezza prefissata collegano ciascuno un rispettivo serbatoio reagenti 9 al canale di pretrattamento 17; inoltre, allo sbocco dei canali reagenti 18 sono definite rispettive camere di mescolamento 20. Un'estremità 17a del canale di pretrattamento 17, opposta al serbatoio campione 8, è collegata con un canale di amplificazione 21 sepolto nel primo corpo 10. In particolare, il canale di amplificazione 21 si estende nel primo corpo 10 al di sotto del canale di pretrattamento 17 e sbocca in una camera di rilevamento 24 ricavata nella struttura di contenimento 13 al di sopra della seconda base 12. Un canale di aspirazione 26, anch'esso sepolto nel primo corpo 10 e avente imbocco nella camera di rilevamento 24, si estende al di

CERBAPC 1300
Revisione A10 di 425/RW

sotto della micropompa 3, alla quale è collegato mediante camini 23, come spiegato in dettaglio più avanti. In pratica, il canale di pretrattamento 17, il canale di amplificazione 21, la camera di rilevamento 24 e il canale di aspirazione 26 formano un unico condotto attraverso il quale viene fatto fluire un campione di materiale biologico da analizzare.

Lungo il canale di pretrattamento 17 e il canale di amplificazione 21 sono realizzate stazioni di elaborazione e analisi del fluido, in prossimità delle quali sono disposti sensori di presenza fluido 22 per controllare l'avanzamento del campione da analizzare. In dettaglio, due celle di dielettroforesi 25 sono collocate nel canale di pretrattamento 17 immediatamente a valle del serbatoio campione 8 e, rispettivamente, fra le camere di mescolamento 20. Le celle di dielettroforesi 25 comprendono rispettive griglie di elettrodi 27, deposti al di sopra della prima base 11 e formanti gabbie elettrostatiche con porzioni della lastra protettiva 14 rispettivamente affacciate. Le griglie di elettrodi 27 sono elettricamente connesse a un dispositivo di controllo, di tipo noto e non mostrato, mediante linee di connessione, anch'esse non mostrate, e premettono di realizzare campi elettrici di intensità e direzione controllabili all'interno delle celle di dielettroforesi.

CERATO E. C.
Isola di A. 426/BM



00440 1139
 00440 1139

A valle del canale di amplificazione 21 è situata la camera di rilevamento 24, che, come accennato in precedenza, è ricavata nella struttura di contenimento 13 ed è delimitata inferiormente dalla seconda base 12 e superiormente dalla lastra protettiva 14. Sulla seconda base 12 è realizzata una matrice di detettori 30, qui del tipo a mensola ("cantilever"), leggibili elettronicamente. Inoltre, un sensore CMOS 31, associato ai detettori 30 e illustrato solo schematicamente in figura 3 è realizzato nel primo corpo 10 al di sotto della camera di rilevamento 24. In pratica, quindi, il sensore CMOS 31 è collegato direttamente ai detettori 30 senza interposizione di linee di connessione di lunghezza significativa.

La micropompa 3, che per comodità è illustrata in figura 3 in modo semplificato, è mostrata in dettaglio

in figura 5. La micropompa 3 comprende un secondo corpo 33 di materiale semiconduttore, ad esempio di silicio, in cui sono realizzate una pluralità di camere a tenuta 32. Più in dettaglio, le camere a tenuta 32 sono di forma prismatica, si estendono parallele fra loro e a una faccia 34a del secondo corpo 33 e hanno dimensioni prefissate, come chiarito più avanti. Inoltre, le camere a tenuta 32 sono sigillate mediante un diaframma 35 di ossido di silicio che chiude rispettivi imbocchi 36 delle camere a tenuta 32 stesse, in modo da mantenere un valore di pressione prefissato e sensibilmente inferiore alla pressione atmosferica (ad esempio, 100 mTorr). Preferibilmente, il diaframma 35 ha spessore non superiore a 1 μm .

Come mostrato nelle figure 3 e 5, gli imbocchi 36 delle camere a tenuta 32 sono situati in corrispondenza di rispettivi camini 23, in modo da essere posti in collegamento fluidico con il canale di aspirazione 26, una volta che sia stato rotto il diaframma 35. Inoltre, dato che la micropompa 3 è incollata ermeticamente al microreattore 2, le camere a tenuta 32 possono essere poste in collegamento con l'esterno soltanto attraverso il condotto formato dai canali di aspirazione 26, di amplificazione 21, di pretrattamento 17 e dai canali reagenti 18.

CELENO
ALFA III 426/BM

La micropompa 3 è poi provvista di elettrodi per l'apertura delle camere a tenuta 32. In particolare, un primo elettrodo di attivazione 37 è annegato nel diaframma 35 e si estende trasversalmente alle camere a tenuta 32, in prossimità degli imbocchi 36 (si veda anche la figura 6); più in dettaglio, il primo elettrodo di attivazione 37 è forato in corrispondenza degli imbocchi 36, in modo da non ostruirli. Secondi elettrodi di attivazione 38 sono disposti su una faccia del diaframma 35 opposta rispetto al primo elettrodo di attivazione 37 e si estendono sostanzialmente paralleli alle camere a tenuta 32. Inoltre, ciascuno dei secondi elettrodi 38 si sovrappone al primo elettrodo 37 in corrispondenza dell'imbocco 36 di una rispettiva camera a tenuta 32, formando così una pluralità di condensatori 40 aventi rispettive porzioni del diaframma 35 come dielettrico.

In figura 7 è illustrato uno schema elettrico semplificato relativo alla micropompa 3 e a un circuito di controllo 41. In pratica, il primo elettrodo di attivazione 37 è collegabile, attraverso un interruttore 42, a un primo generatore di tensione 43, fornente una prima tensione V_1 ; mediante un selettore 44, i secondi elettrodi di attivazione 38 sono selettivamente collegabili a un secondo generatore di tensione 45, fornente

CELESTIO S.p.A.
Via S. Maria 40 - 40136 BOLOGNA

una seconda tensione V_2 , preferibilmente di segno opposto alla prima tensione V_1 . In questo modo, è possibile selezionare di volta in volta uno dei condensatori 40 e applicare ai suoi terminali una tensione pari a $V_1 - V_2$ e superiore a una tensione di rottura del diaframma 35 che funge da dielettrico. Di conseguenza, la corrispondente camera a tenuta 32 viene selettivamente aperta e posta in collegamento fluidico con il canale di aspirazione 26.

All'inizio del processo di analisi del DNA, un campione (fluido) di materiale biologico grezzo viene introdotto all'interno del serbatoio campione 8, mentre i serbatoi reagenti 9 vengono riempiti con rispettive specie chimiche necessarie per la preparazione del campione, ad esempio per successive fasi di lisi dei nuclei. In questa situazione, viene impedito l'afflusso dell'aria dall'ambiente esterno verso l'interno del canale di pretrattamento 17, dei canali reagenti 18 e del canale di amplificazione 21.

Quindi, viene azionata la micropompa 3, rompendo la porzione del diaframma 35 che sigilla una delle camere a tenuta 32. In pratica, aprendo la cella a vuoto 32 viene creata una depressione e quindi, dopo che è stata aspirata l'aria presente, il campione e i reagenti preventivamente introdotti nei serbatoi 8, 9 vengono

Caricato il no
Ricevuto 01/11/2001



aspirati lungo il condotto formato dal canale di pretrattamento 17, dai canali reagenti 18, dal canale di amplificazione 21, dalla camera di rilevamento 24 e dal canale di aspirazione 26. La massa di fluido movimentata e la distanza percorsa dipendono dal valore di pressione presente nella camera a tenuta 32 prima dell'apertura e dalle dimensioni della camera a tenuta 32 stessa. In pratica, la prima cella a vuoto 32 che viene aperta è dimensionata in modo che il campione avanzi fino alla cella di dielettroforesi 25 posta all'imbocco del canale di pretrattamento 17 e i reagenti avanzino di prefissate distanze lungo i rispettivi canali reagenti.

Dopo l'effettuazione di un primo trattamento dielettroforetico, vengono aperte in successione e a istanti prefissati le altre camere a tenuta 32 della pompa 3, in modo da far avanzare il campione dapprima lungo il canale di pretrattamento 17 e poi lungo il canale di amplificazione 21, fino alla camera di rilevamento 24; in pratica, quindi, la micropompa 3 viene utilizzata come pompa aspirante azionabile a passi discreti. Il campione, il cui avanzamento è controllato anche mediante i sensori di presenza 22, viene preparato nel canale di pretrattamento 17 (separazione del materiale di scarto nelle celle di dielettroforesi 25 e

CEBAC 1 km
C 3000
Isotoni Abt. n. 426/200

lisi dei nuclei nelle camere di mescolamento 20) e nel canale di amplificazione 21, dove viene eseguito un trattamento PCR; quindi, nella camera di rilevamento 24 avviene l'ibridizzazione dei detettori 30, che vengono poi letti mediante il sensore CMOS 31.

Nelle figure 8 e 9, è illustrato un dispositivo integrato 100 realizzato secondo una diversa forma di attuazione dell'invenzione e comprendente un microreattore 102 e una micropompa 103, analoga alla micropompa 3 delle figure 1-5. In questo caso, una struttura di contenimento 104 di SU-8 è formata direttamente su una scheda PCB 105, che funge da supporto, ed è ricoperta da una lastra protettiva 106 provvista di una pellicola conduttiva 106', su cui è saldata la micropompa 103. Il microreattore 102 comprende serbatoi campione 107 e reagenti 108; un canale di pretrattamento 110, che si estende dal serbatoio campione 107 e sbocca in una camera di amplificazione 111; canali reagenti 112, che collegano un rispettivo serbatoio reagenti 108 al canale di processazione 110; una camera di rilevamento 113, disposta a valle della camera di amplificazione 111; e un canale di aspirazione 115, uscente dalla camera di rilevamento 113 e connesso alla micropompa 103 attraverso aperture 116 praticate nella lastra protettiva 106. Inoltre, un circuito di lettura 117 è portato sul-

CESARO Eleno
Iscrizione A.I.C. n° 426/BW

la scheda PCB 105 esternamente al microreattore 102 in prossimità della camera di rilevamento 1.

Lungo il canale di processazione 110 sono realizzare celle di dielettroforesi 119, dove sono poste griglie di elettrodi 120 formanti gabbie elettrostatiche con la lastra protettiva 106, e camere di mescolamento 121, allo sbocco dei canali reagenti 108. Inoltre, un riscaldatore 122 è posto all'interno della camera di amplificazione 113. Preferibilmente, un dissipatore 123 è connesso alla scheda PCB 48 in corrispondenza del riscaldatore 55.

La camera di rilevamento 113 comprende una matrice di detettori 125, analoghi a quelli già descritti, connessi al circuito di lettura 117.

Nella forma di realizzazione descritta, le griglie di elettrodi 120 delle celle di dielettroforesi 119, il riscaldatore 122 e i detettori 125 sono stampati direttamente sulla scheda PCB 105.

La micropompa 103 comprende un corpo semiconduttore 127, in cui sono ricavate camere a tenuta 128 sigillate da un diaframma 130 e aventi imbocchi 131 in corrispondenza di rispettive aperture 116 della lastra protettiva 106. La micropompa 3 è poi provvista di un primo elettrodo di attivazione 133, annegato nel diaframma 130 ed estendentesi trasversalmente alle camere

CERVARO ELEND
[edizione Albo n. 426/BM]

a tenuta 128, in prossimità degli imbocchi 131; e di secondi elettrodi di attivazione 134, disposti su una faccia del diaframma 130 opposta rispetto al primo elettrodo di attivazione 133 ed estendentisi sostanzialmente paralleli alle camere a tenuta 128. Inoltre, ciascuno dei secondi elettrodi di attivazione 134 si sovrappone al primo elettrodo di attivazione 133 in corrispondenza dell'imbocco 131 di una rispettiva camera a tenuta 128.

Il dispositivo integrato secondo l'invenzione presenta numerosi vantaggi.

In primo luogo, tutte le stazioni di processazione necessarie per la preparazione e l'analisi del campione di materiale biologico sono realizzate su un unico supporto (ossia il primo corpo 10 o la scheda PCB 105) e sono fra loro in collegamento fluidico permanente; in particolare, anche la micropompa è saldata direttamente al microreattore. Viene così superata la necessità, al momento dell'analisi, di collegare mediante connessioni microfluidiche dispositivi realizzati su supporti diversi e di manipolare il campione di materiale biologico in fasi intermedie del processo. Di conseguenza vengono eliminate tutte le perdite di fluido campione che affliggono le apparecchiature tradizionali e che sono normalmente dovute a tenute imperfette e/o ad eva-

CERBARO Elettro
Isolazione Pcb n° 426/BM



porazione. Sono perciò sufficienti minime quantità di materiale biologico grezzo, dell'ordine dei microlitri o, addirittura, dei nanolitri. Chiaramente, dall'impiego di quantità di fluido campione inferiori deriva anche una vantaggiosa riduzione sia dei costi sia della durata del trattamento (ciclature termiche più brevi). Inoltre, dato che il dispositivo secondo l'invenzione provvede alla preparazione, all'analisi e alla movimentazione del fluido campione, è possibile effettuare analisi di DNA anche al di fuori di ambienti specializzati o in assenza di personale qualificato.

Il dispositivo secondo l'invenzione può anche essere fabbricato a basso costo ed è perciò adatto a essere impiegato come prodotto monouso ("disposable").

Particolarmente vantaggiosa è la prima forma di realizzazione (descritta con riferimento alle figure 1-6), per almeno due motivi. Da un lato, infatti, nel canale di amplificazione 21 viene sfruttata l'alta conduttività termica del silicio, che permette di imporre profili di temperatura ripidi e precisi durante il processo PCR. Dall'altro, il sensore CMOS 31 può essere realizzato nelle immediate vicinanze dei detettori 30, praticamente senza utilizzare linee di connessione o predisponendo linee di lunghezza trascurabile. È noto che la lettura elettromnica dei detettori ibridizzati

CEASAR FOR
Divisione A&P N° 426/444

può essere basta su grandezze diverse: ad esempio, è possibile rilevare variazioni di capacità, come nell'esempio descritto, di impedenza o di altre grandezze elettriche. Inoltre, la lettura può essere effettuata secondo diverse modalità: continua, dinamica o tramite uno sweep di frequenze variabili e controllate. In tutti i casi, comunque, devono esse rilevate variazioni molto piccole; per ridurre al minimo le eventuali cause di distorsione, è quindi estremamente importante che il circuito di lettura (il sensore CMOS, nell'esempio descritto) sia disposto il più vicino possibile ai detettori.

Per contro, la seconda forma di attuazione dell'invenzione descritta permette di realizzare dispositivi integrati ancora più semplici ed economici.

Ulteriori vantaggi derivano dall'impiego della micropompa a vuoto. Innanzi tutto, la micropompa è saldata in modo ermetico al microreattore e quindi non è soggetta a perdite; inoltre, è priva di parti in movimento e non interagisce direttamente con il fluido campione, evitando possibili reazioni chimiche. La micropompa è poi in grado di muovere il fluido campione in un unico verso senza l'ausilio di valvole e di farlo avanzare ad ogni passo di una distanza prestabilita.

Sia il microreattore 2, sia la micropompa 3 posso-

CERRO Eina
libro n° 426/BW

no poi essere realizzati in modo semplice. In particolare, un procedimento per la fabbricazione del microreattore 2 è di seguito illustrato con riferimento alle figure 10-13.

Inizialmente, in un substrato 51 di una fetta semiconduttrice 50 viene realizzato il sensore CMOS 31, mediante fasi di lavorazione note. Successivamente, vengono realizzati i canali di amplificazione 21 e di aspirazione 26, che sono sepolti nel substrato 21, e i camini 23.

Quindi (figura 11), dopo aver depositato uno strato di polisilicio di germe, qui non mostrato, viene cresciuto uno strato epitassiale 52, che viene ossidato in superficie. Si forma così uno strato di ossido di pad 53, su cui viene depositato il riscaldatore 28. Il substrato 51 e lo strato epitassiale 53 formano in pratica il corpo 10 di supporto del microreattore 2.

In seguito (figura 12), uno strato spesso di ossido di silicio viene depositato e definito, in modo da realizzare la prima e la seconda base 11, 12, su cui vengono formati gli elettrodi 27 e i detettori 30. Viene poi realizzata la struttura di contenimento 13, che delimita il canale di pretrattamento 17 e la camera di rilevamento 24. In particolare, in questa fase uno strato di materiale polimerico 13', qui SU-8, viene de-

posto sopra alla fetta 50 e quindi definito.

Quindi, il corpo 10 viene attaccato per aprire un accesso al canale di amplificazione 12 e ai camini 23, come mostrato in figura 13.

Dopo l'incollaggio della micropompa 3, i detettori 30 vengono funzionalizzati, ossia vengono ancorati segmenti di DNA preselezionati, complementari a quelli da analizzare. Infine, la lastra protettiva 14 viene incollata sopra la struttura di contenimento 14 e viene selettivamente attaccata per aprire il serbatoio campione 8 e i serbatoi reagenti 9. in alternativa, la lastra protettiva 14 può essere composta da due parti, che vengono applicate a chiusura del canale di pretrattamento 17 e della camera di rilevamento 24 rispettivamente prima e dopo la funzionalizzazione dei detettori 30 .

Si ottiene così la struttura di figura 3. Il metodo descritto permette di realizzare agevolmente canali su due diversi livelli fra loro sovrapposti (il canale di pretrattamento 17 a un livello più esterno e i canali di amplificazione 21 e di aspirazione 26 a un livello più interno); la struttura che si ottiene in questo modo è compatta e di dimensioni ridotte.

La micropompa può invece essere realizzata mediante il procedimento illustrato di seguito, con rife



mento alle figure 14-21.

Su una fetta semiconduttrice 60, avente un substrato 61, viene inizialmente formata una maschera hard 62, comprendente uno strato di ossido di silicio 63 e uno strato di nitrato di silicio 64. La maschera hard 62 presenta gruppi di fessure 65 sostanzialmente rettilinee e fra loro parallele. Il substrato 61 viene quindi attaccato, mediante attacco in TMAH (tetrametilammonioidrossido), e vengono scavate le camere a tenuta 32, attraverso rispettivi gruppi di fessure 65.

Successivamente (figura 11), viene deposto uno strato di polisilicio 68, ricoprente la superficie della maschera hard 62 e pareti 32a delle camere a tenuta 32; inoltre, lo strato di polisilicio 68 ingloba porzioni 62a della maschera hard 62, rimaste sospese dopo la formazione delle camere a tenuta 32. Lo strato di polisilicio 68 viene poi ossidato termicamente (figura 12), in modo da formare uno strato di ossido di silicio 70, che cresce anche verso l'esterno e chiude le fessure 65.

Dopo la deposizione di uno strato di germe 71 di polisilicio (figura 13), uno strato epitassiale 72 viene cresciuto e ossidato termicamente in superficie, in modo da formare uno strato isolante 74 (figura 14). Sopra allo strato isolante 74 viene poi deposta una stri-

REDACTED
Page 40 of 40

scia di alluminio formante il primo elettrodo di attivazione 37.

In seguito, viene effettuato un attacco STS. Come mostrato in figura 15, in questa fase vengono forati il primo elettrodo di attivazione 37, lo strato isolante 74, lo strato epitassiale 72 e la maschera hard 62 e vengono definiti gli imbocchi 36 delle camere a tenuta 32, che perciò vengono nuovamente aperte.

Mediante deposizione di ossido di silicio in condizione di bassa pressione (ad esempio 100 mTorr), viene quindi formato il diaframma 35, che ingloba il primo elettrodo di attivazione 37 e sigilla le camere a tenuta 32 (figura 16). Di conseguenza, all'interno delle camere a tenuta 32 viene mantenuta la pressione imposta durante la deposizione del diaframma 35.

Quindi, mediante una nuova deposizione di alluminio, vengono formati i secondi elettrodi di attivazione 38 e viene poi realizzato uno strato protettivo 75 di resist, aperto al di sopra dei secondi elettrodi di attivazione 38 (figura 17).

Infine, la fetta semiconduttrice 60 viene tagliata in modo da ottenere una pluralità di "dice", ciascuno contenente una micropompa 3 che viene incollata a un rispettivo microreattore 2; si ottiene così la struttura mostrata nelle figure 3 e 5.

CERAMIC GROUP
Fotografia 450 n° 425/5M

Risulta infine evidente che al dispositivo integrato descritto possono essere apportate modifiche e varianti, senza uscire dall'ambito della presente invenzione.

Ad esempio, il microreattore può comprendere un diverso numero di celle di dielettroforesi e/o di camere di mescolamento; nel secondo caso, anche il numero di serbatoi reagenti e dei rispettivi canali reagenti è diverso da quanto mostrato. In particolare, il numero e la successione delle celle di dielettroforesi e delle camere di mescolamento dipende dal tipo di trattamento a cui deve essere sottoposto il fluido campione. Inoltre, il microreattore 2 può comprendere più di un riscaldatore, per effettuare diverse fasi di trattamento termico (ad esempio, lisi termica dei nuclei, in luogo della lisi mediante procedimento biochimico). Anche il sensore CMOS potrebbe essere realizzato diversamente: ad esempio potrebbe essere fabbricato separatamente su una piastrina semiconduttrice dedicata e quindi incollato sul corpo del microreattore.

Anche la micropompa può comprendere un diverso numero di camere a tenuta, a seconda del numero di passi richiesti dal trattamento. Le camere a tenuta possono differire anche per forma dimensioni e disposizione; in particolare, le camere a tenuta possono essere disposte

CERBA O. M. S.
Riviera - A.P.O. n. 444/WW

a matrice. In questo caso, la micropompa può comprendere una pluralità primi elettrodi 37 (fino al numero di righe della matrice) e un selettore di riga, analogo al selettore mostrato in figura 7, per connettere selettivamente uno dei primi elettrodi 37 al primo generatore di tensione 43.

Infine, il microreattore può essere accoppiato a una micropompa basata su un diverso principio di funzionamento rispetto a quanto descritto.

CERCA RO ELENCO
Iscrizione Albo n° 426/1841



R I V E N D I C A Z I O N I

1. Dispositivo integrato di analisi del DNA, avente un supporto (10; 48) e un primo serbatoio (8; 107), per l'immissione di un campione biologico grezzo, caratterizzato dal fatto di comprendere almeno un canale di pretrattamento (17; 110), una camera di amplificazione (21; 111) e una camera di rilevamento (24; 113) portati da detto supporto (10; 105) e in collegamento fluidico fra loro e con detto serbatoio (8; 107).

2. Dispositivo secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto canale di pretrattamento (17; 110) comprende almeno una cella di dielettroforesi (25; 119).

3. Dispositivo secondo la rivendicazione 1 o 2, caratterizzato dal fatto di comprendere almeno un secondo serbatoio (9; 108) per l'immissione di specie reagenti e dal fatto che detto canale di pretrattamento (17; 110) comprende almeno una camera di mescolamento (20; 121) in collegamento fluidico con detto secondo serbatoio (9; 108).

4. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che detto supporto è un primo corpo (10) di materiale semiconduttore.

5. Dispositivo secondo la rivendicazione 4, carat-

CEBAO Eleo
disclosure also n° 426/BM

terizzato dal fatto che detta camera di amplificazione (21) comprende un canale sepolto realizzato all'interno di detto primo corpo (10).

6. Dispositivo secondo la rivendicazione 4 o 5, caratterizzato dal fatto di comprendere un circuito di rilevamento (31) associato a detta camera di rilevamento (24) e realizzato all'interno di detto primo corpo (10).

7. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, caratterizzato dal fatto che detto supporto è una scheda PCB (105).

8. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che detto canale di pretrattamento (17; 110) è realizzato al di sopra di detto supporto (10; 105) ed è delimitato lateralmente da una struttura di contenimento (13; 104) e superiormente da una lastra protettiva (14; 106) ricoprente detta struttura di contenimento (13; 104).

9. Dispositivo secondo la rivendicazione 8, caratterizzato dal fatto che detta struttura di contenimento (13; 104) è realizzata in un materiale polimerico.

10. Dispositivo secondo la rivendicazione 8 o 9, caratterizzato dal fatto che detta lastra protettiva (14; 106) comprende uno strato conduttivo.

11. Dispositivo secondo la rivendicazione 10, ca-

CEGNO 2000
Iscrizione Albo nr 425/BM

ratterizzato dal fatto che detta camera di rilevamento (24; 113) è delimitata lateralmente da detta struttura di contenimento (13; 104) ed è ricoperta da detta lastra protettiva (14; 106).

12. Dispositivo secondo la rivendicazione 11 caratterizzato dal fatto che detta lastra protettiva (14; 106) è realizzata in un materiale trasparente.

13. Dispositivo secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che detta lastra protettiva (14; 106) è realizzata in vetro conduttivo.

14. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 10-13, caratterizzato dal fatto che detta cella di dielettroforesi (25; 119) comprende una griglia di elettrodi (27; 120), formante una gabbia elettrostatica con detta lastra protettiva (14; 106).

15. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto di comprendere una micropompa (3; 103).

16. Dispositivo secondo la rivendicazione 15, caratterizzato dal fatto che detta micropompa (3; 103) è una pompa a vuoto.

17. Dispositivo secondo la rivendicazione 15 o 16, caratterizzato dal fatto che detta micropompa (3; 103) comprende un secondo corpo (33; 127) di materiale semiconduttore, in cui sono realizzate camere a tenuta (32;

14/07/2014 10:40:14
CERAMIC
14/07/2014 10:40:14

128), aventi una pressione prefissata e collegabili a detta camera di rilevamento (24; 113).

18. Dispositivo secondo la rivendicazione 17, caratterizzato dal fatto di comprendere un canale di aspirazione (26; 115) collegante detta camera di rilevamento (24; 113) a detta micropompa (3; 103).

19. Dispositivo secondo la rivendicazione 17 o 18, caratterizzato dal fatto che dette camere a tenuta (32; 128) sono sigillate mediante un diaframma (35; 130) apribile elettricamente.

20. Dispositivo secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che detto diaframma (35; 130) ha spessore non superiore a 1 μm .

21. Dispositivo secondo la rivendicazione 19 o 20, caratterizzato dal fatto che detta micropompa (3; 103) comprende mezzi elettrici di apertura (37, 38; 133, 134) di detto diaframma (35; 130).

22. Dispositivo secondo la rivendicazione 21, caratterizzato dal fatto che detti mezzi elettrici di apertura (37, 38; 133, 134) comprendono almeno un primo elettrodo (37; 133) e, per ciascuna camera a tenuta (32; 128), un rispettivo secondo elettrodo (38; 134); detto diaframma (35; 130) essendo interposto fra detto primo elettrodo (37; 133) e un rispettivo di detti secondi elettrodi (38; 134) in prossimità di un imboccatura.

Ufficio
Brevetti
e Marchi



(36; 131) di ciascuna detta camera a tenuta (32; 128).

23. Dispositivo secondo la rivendicazione 21 o 22, caratterizzato dal fatto di comprendere un primo generatore di tensione (43), collegabile a detto primo elettrodo (37) di detta micropompa (3) e fornente una prima tensione (V_1), e un secondo generatore di tensione (45), selettivamente collegabile a uno di detti secondi elettrodi (38) di detta micropompa (3) e fornente una seconda tensione (V_2).

24. Procedimento per la fabbricazione di un dispositivo integrato di analisi del DNA, comprendente le fasi di:

- realizzare almeno un primo canale (21) all'interno di un corpo (10) di materiale semiconduttore; e

- realizzare almeno un secondo canale (17) al di sopra di detto corpo (10), detto secondo canale (17) essendo almeno parzialmente sovrapposto a detto primo canale (21).

25. Procedimento secondo la rivendicazione 24, in cui detta fase di realizzare almeno un secondo canale (17) comprende le fasi di:

- deporre uno strato di materiale polimerico (13') sopra a detto corpo (10); e

- definire detto strato di materiale polimerico

034480 del 14/07/01
14/07/01
14/07/01

(13'), in modo da realizzare una struttura di contenimento (13) delimitante detto secondo canale (17).

26. Procedimento secondo la rivendicazione 25, in cui prima di detta fase di realizzare almeno un secondo canale (17) vengono eseguite le fasi di:

- deporre un riscaldatore (28) sopra a detto corpo;

- formare sopra a detto corpo una prima base (11) inglobante detto riscaldatore (28), e una seconda base (12); e

- deporre elettrodi (27) sopra a detta prima base (11) e detettori (30) sopra a detta seconda base (12).

27. Procedimento secondo la rivendicazione 26, in cui detta fase di definire detto strato di materiale polimerico (13') comprende attorno a detti detettori formare una camera (24) in collegamento fluidico con detto primo canale (21).

28. Procedimento secondo la rivendicazione 27, comprendente le fasi di:

- funzionalizzare detti detettori (30); e
- chiudere detta camera (24) con una lastra protettiva (14).

29. Procedimento secondo la rivendicazione 28, in cui detta lastra protettiva (14) è trasparente.

30. Procedimento secondo la rivendicazione 28 o

29, in cui detta lastra protettiva (14) è conduttiva.

31. Dispositivo integrato di analisi del DNA, sostanzialmente come descritto con riferimento alle figure annesse.

p.i.: STMICROELECTRONICS S.R.L.

Alvaro
CERBATO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BMI


C.C.I.A.A.
Torino

CERBATO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BMI

10 2002 A000808

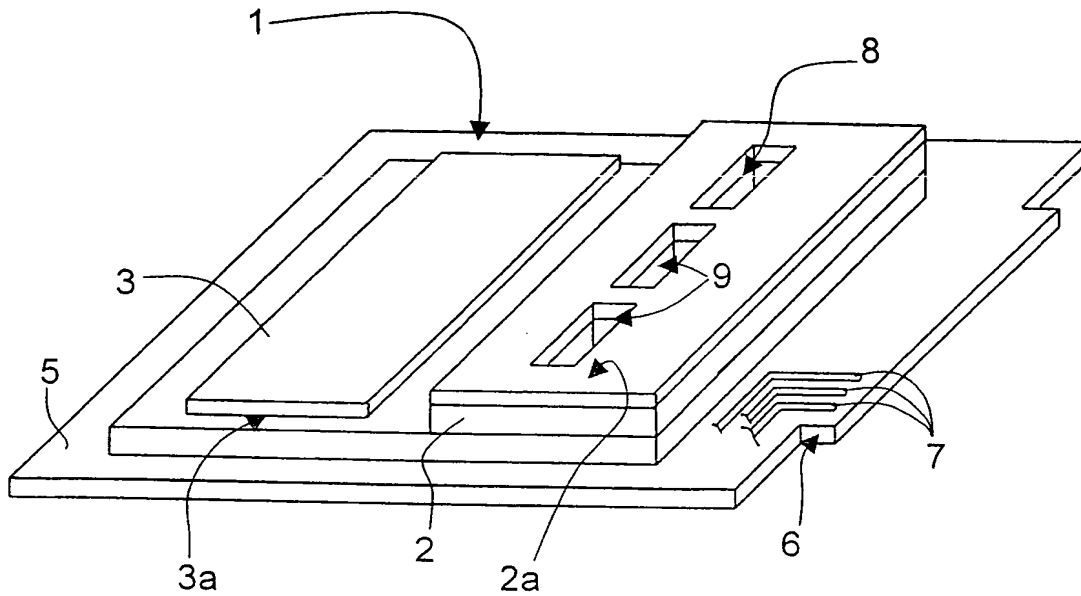


Fig.1

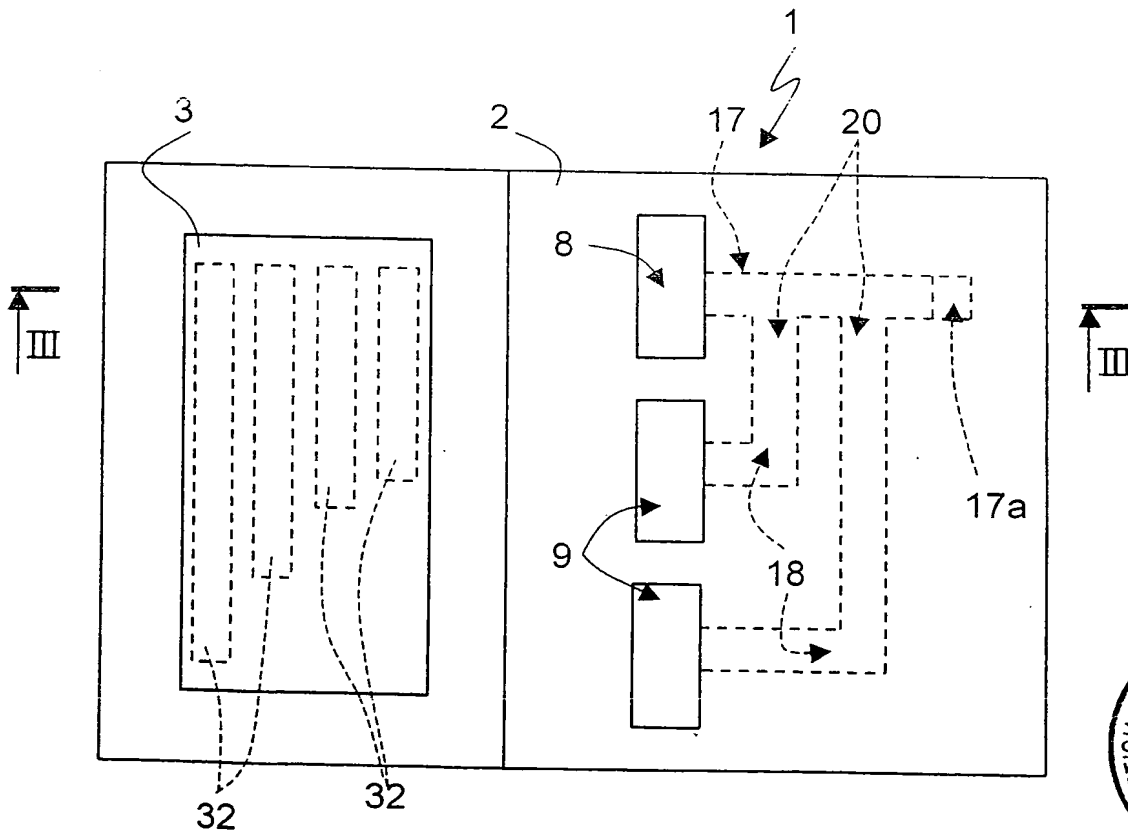


Fig.2

p.i.: STMICROELECTRONICS S.R.L.

CEBAPRO Elma
Riscossione Albo nr 426/BMI



C.C.I.A.A.
Torino

2002 A000808

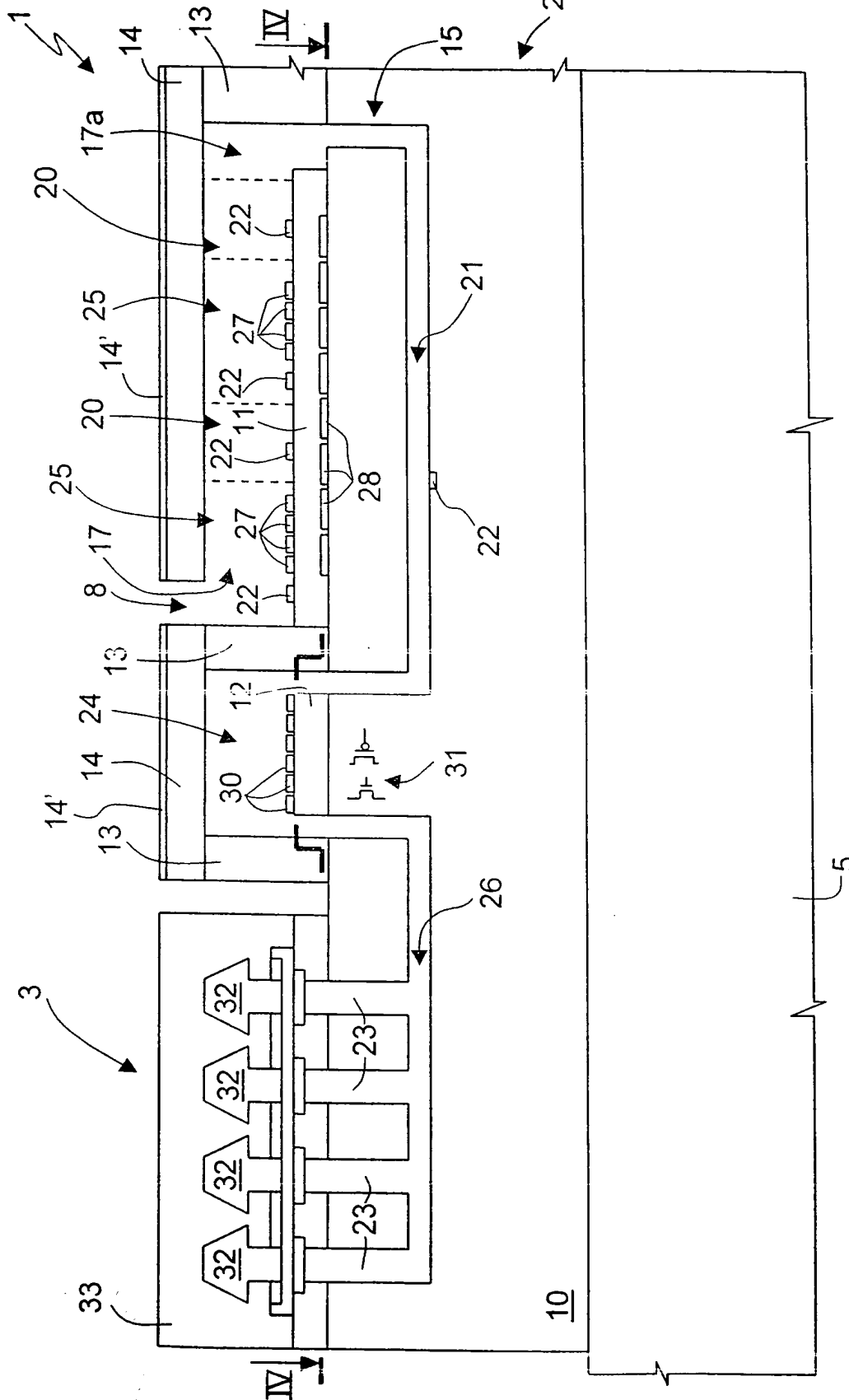


Fig.3

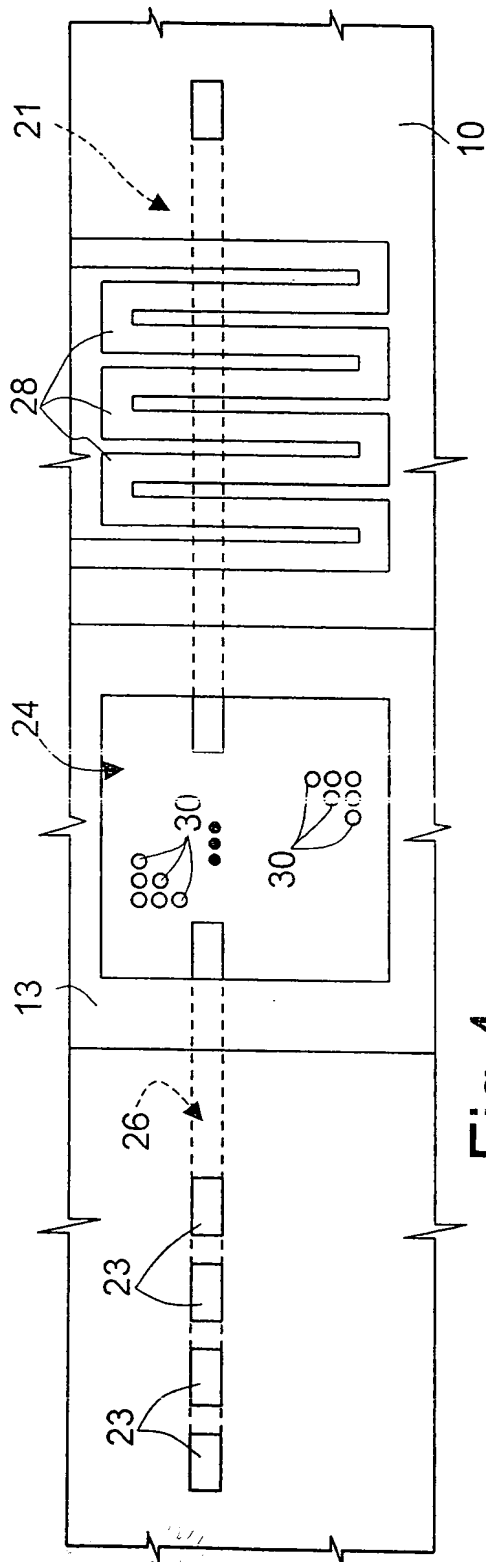


Fig. 4

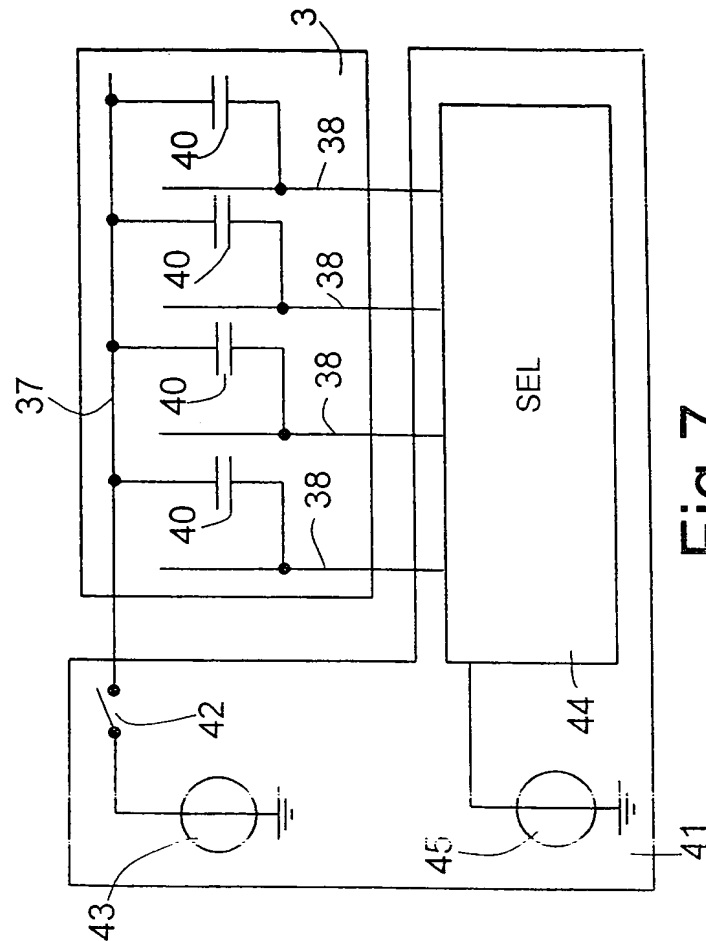


Fig. 7.

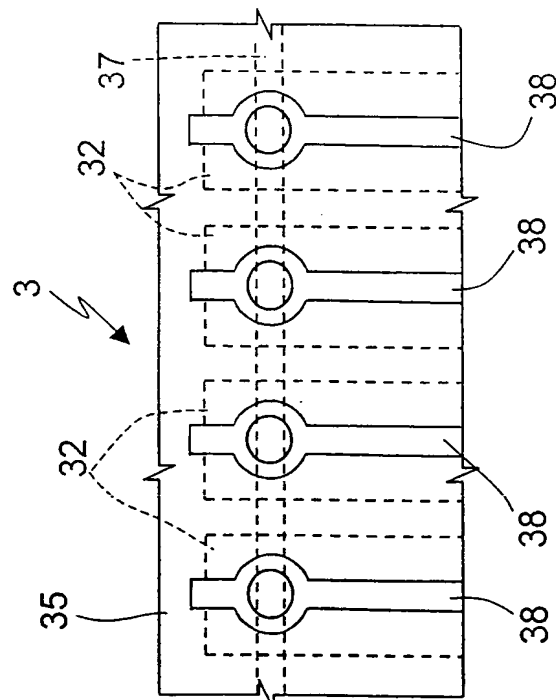


Fig. 6

2002 A000808

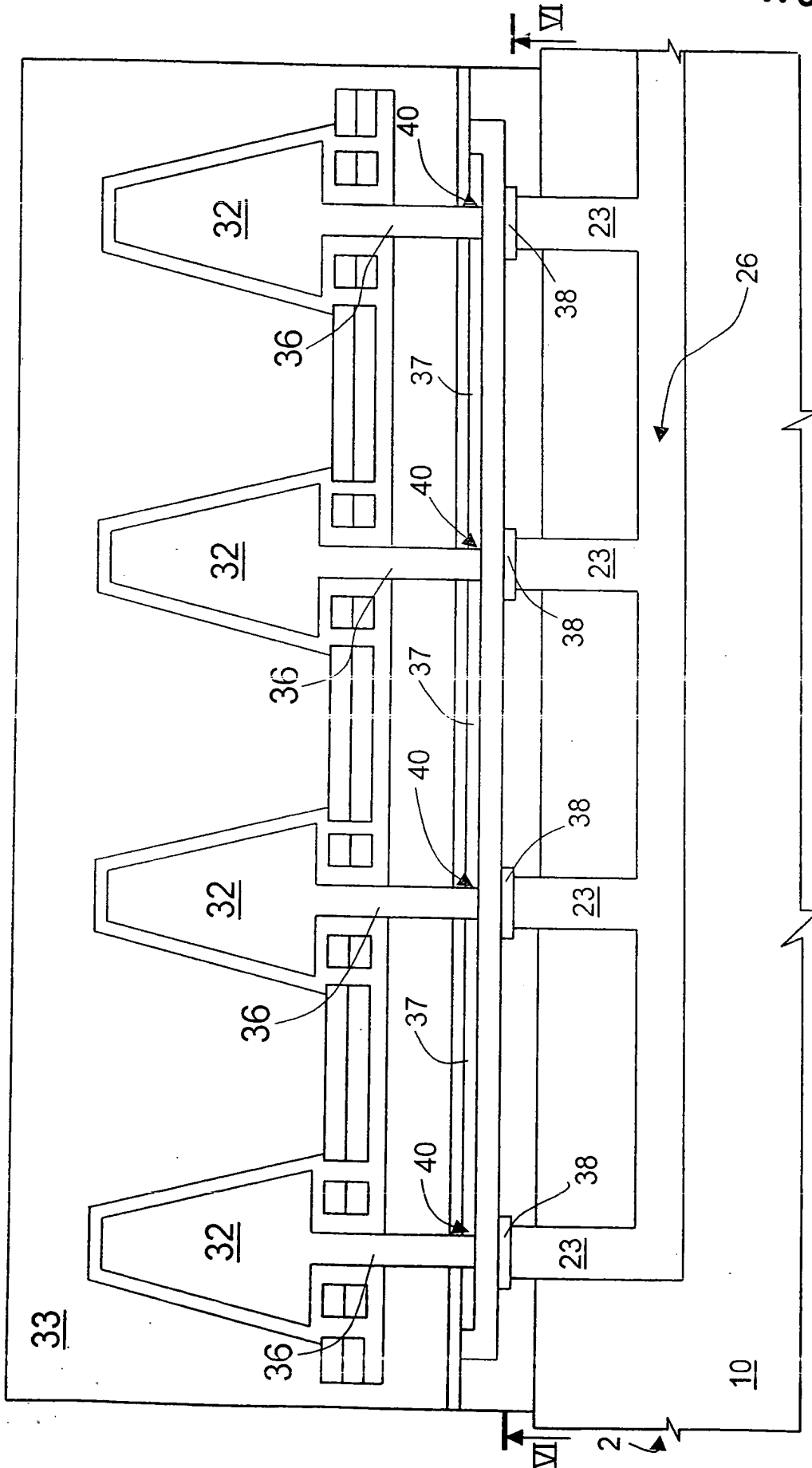


Fig. 5

C.O.A.A. Torino

STIMICROELECTRONICS S.R.L.
C.O.A.A. Torino
Iscrizione Albo nr 4207/EM

10 2002 A000808

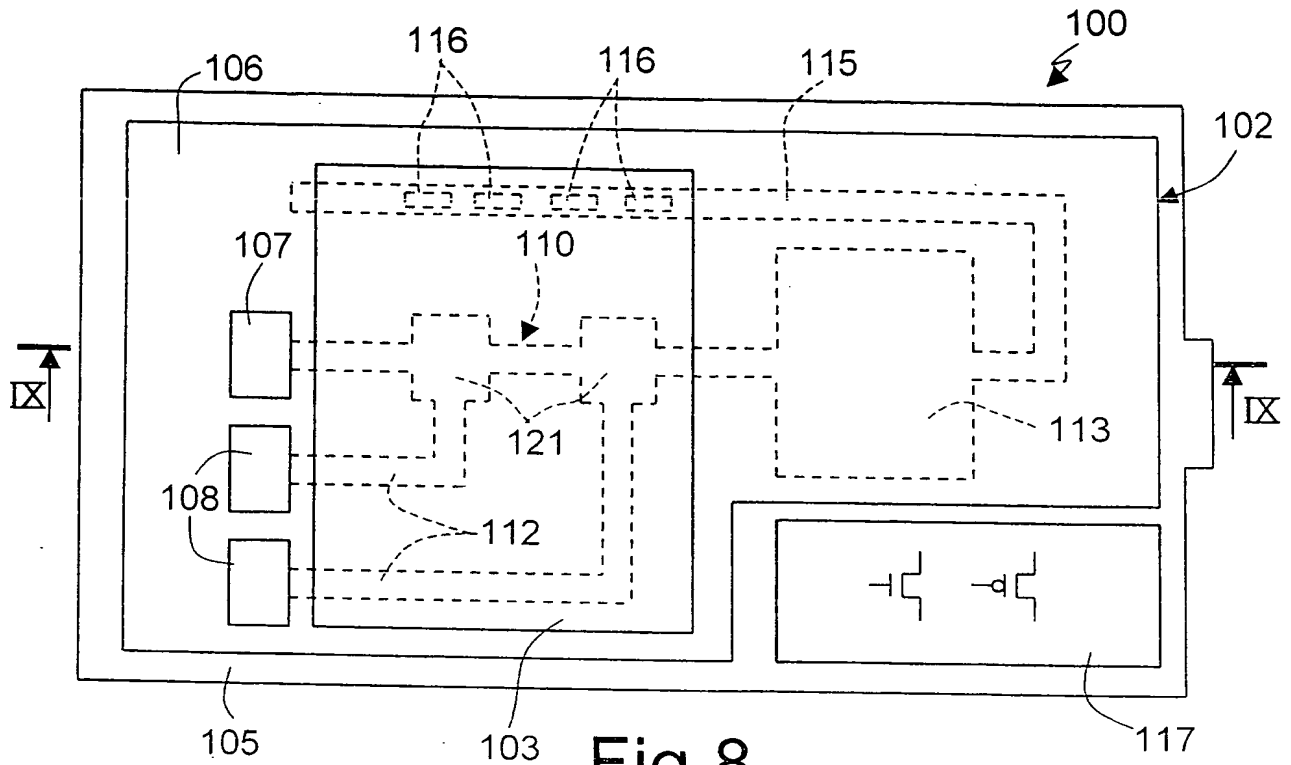


Fig. 8

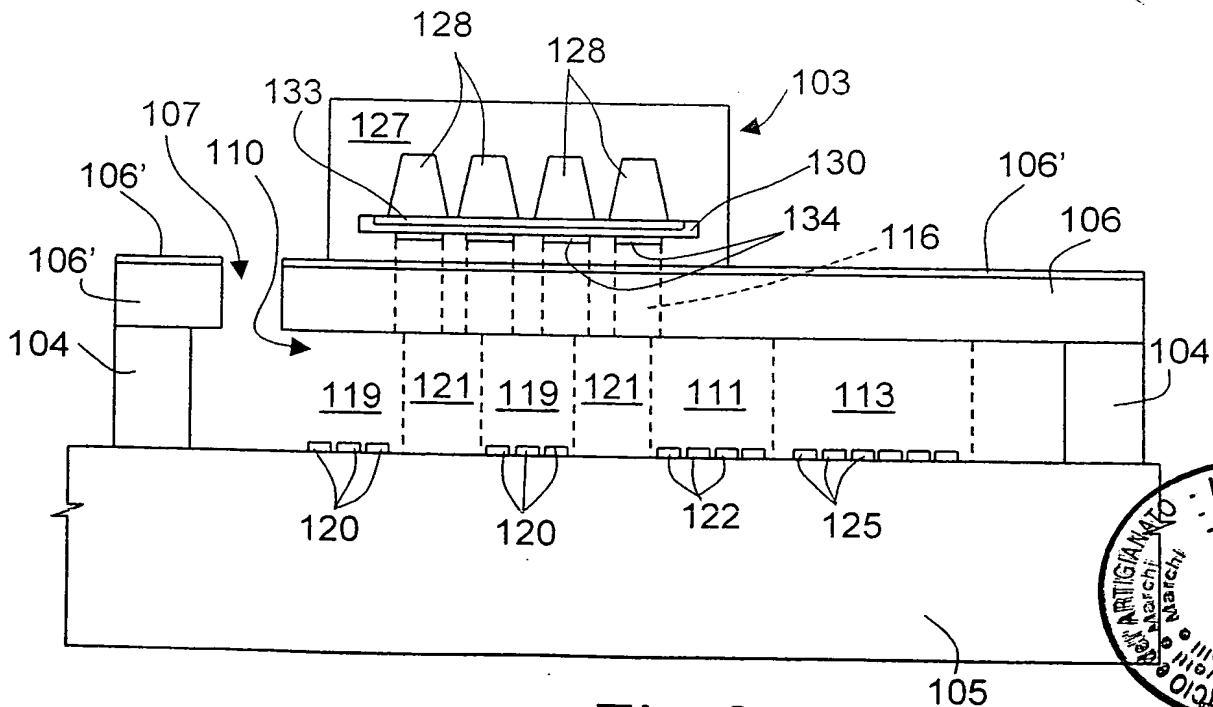
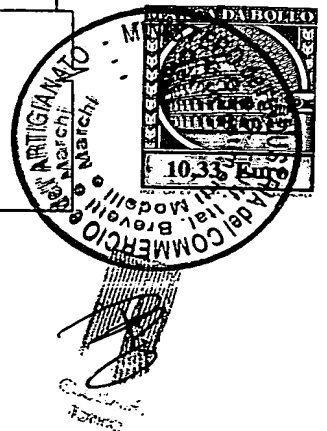


Fig. 9

p.i.: STMICROELECTRONICS S.R.L.

CENTRO Elett
Iscrizione Albo nr 426/BMI



2002 A000808

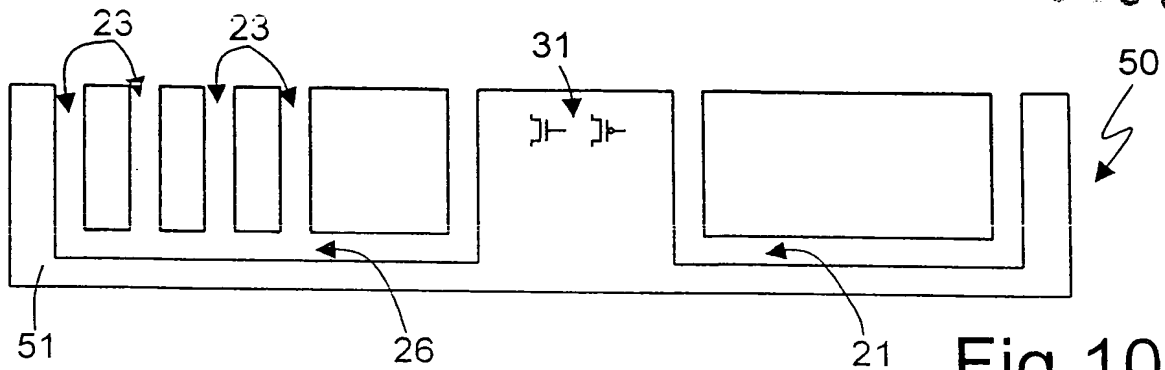


Fig. 10

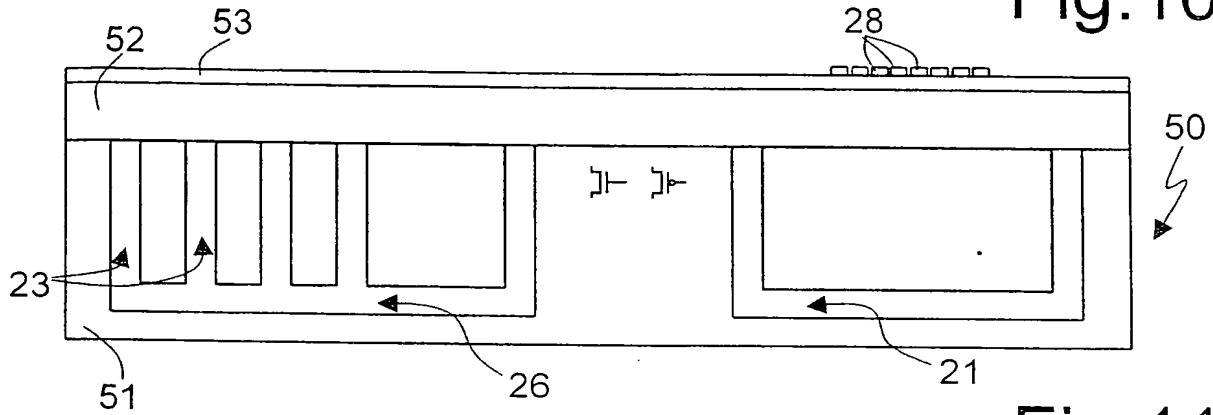


Fig. 11

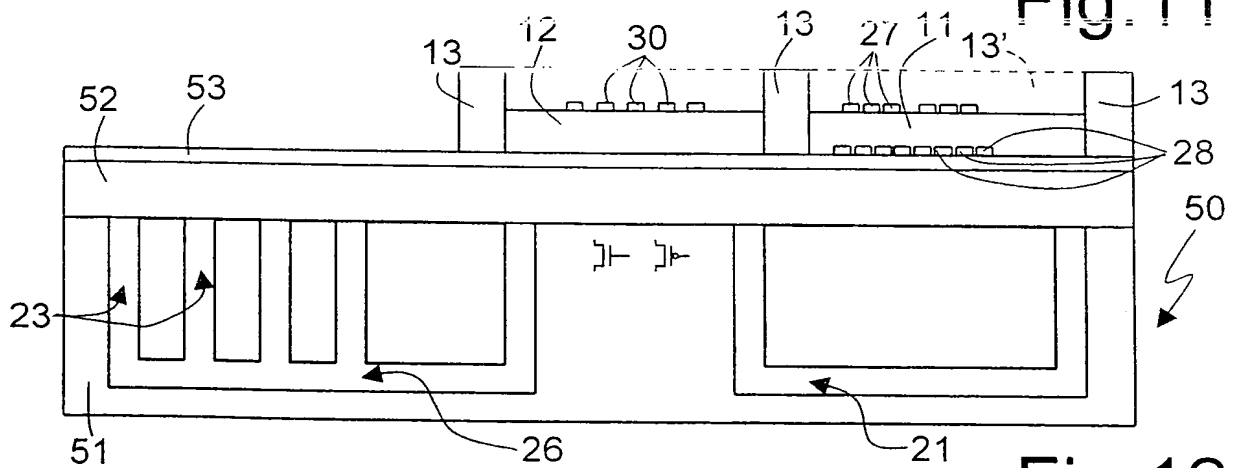


Fig. 12

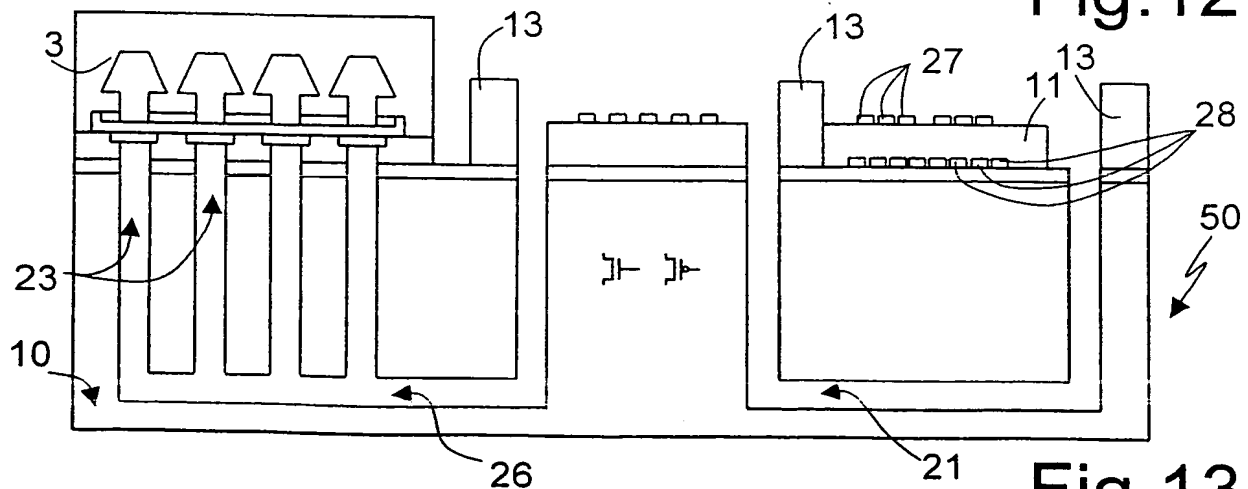


Fig. 13

10 2002 A000808

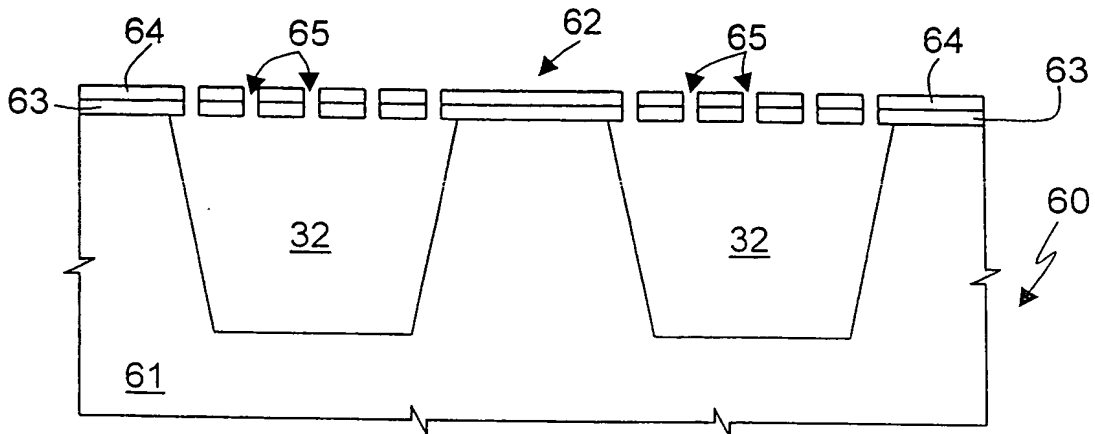


Fig. 14

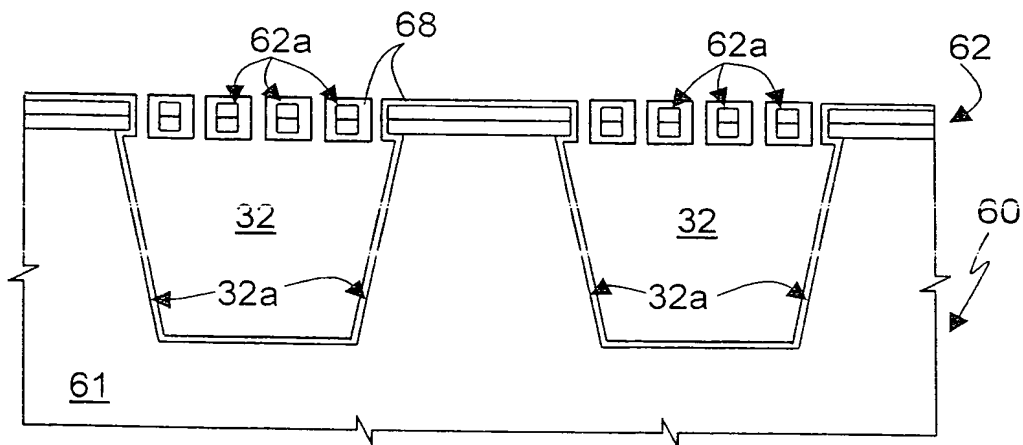


Fig. 15

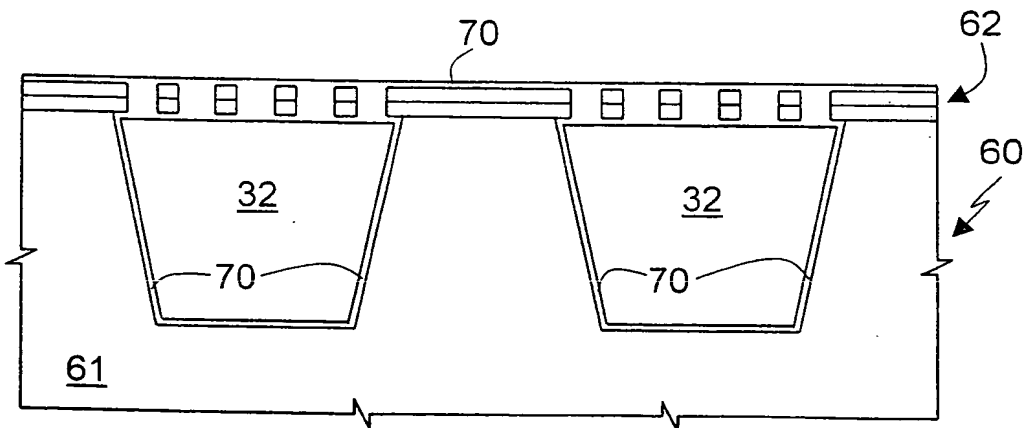


Fig. 16

10 2002 A000808

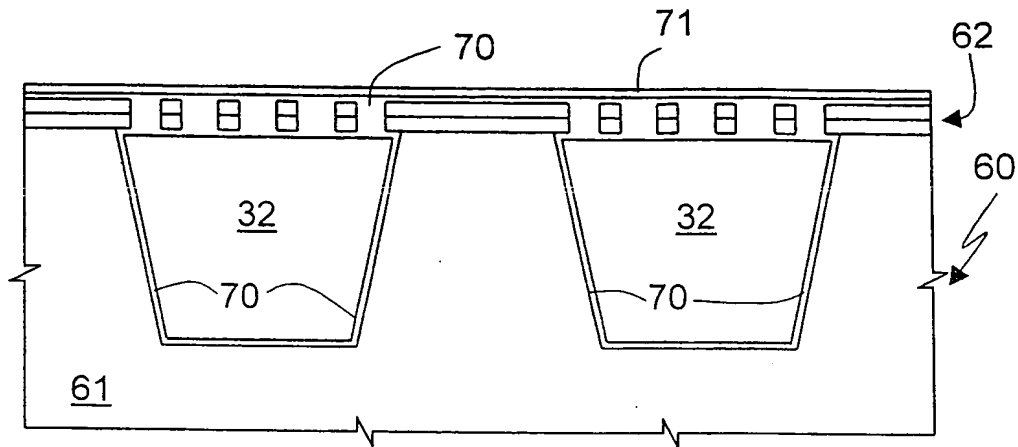


Fig. 17

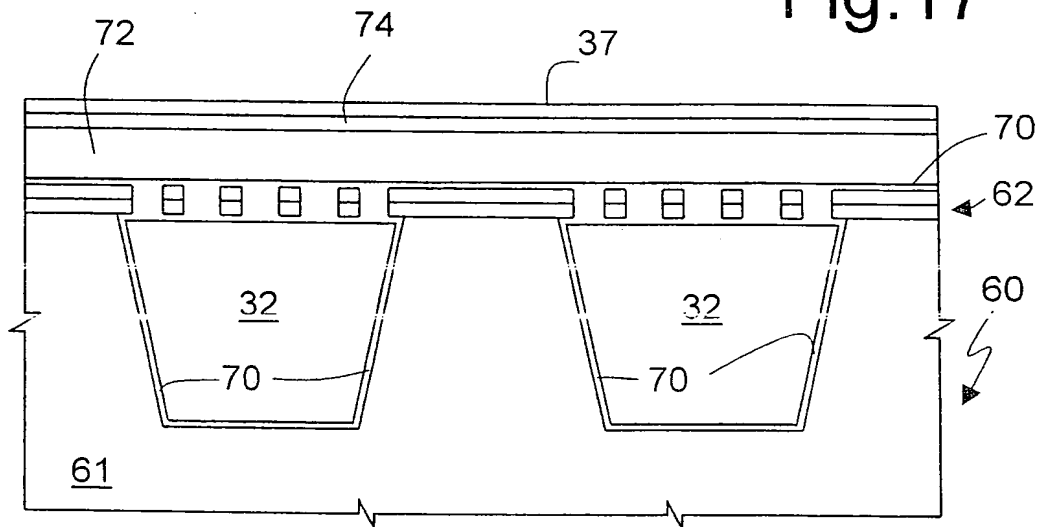


Fig. 18

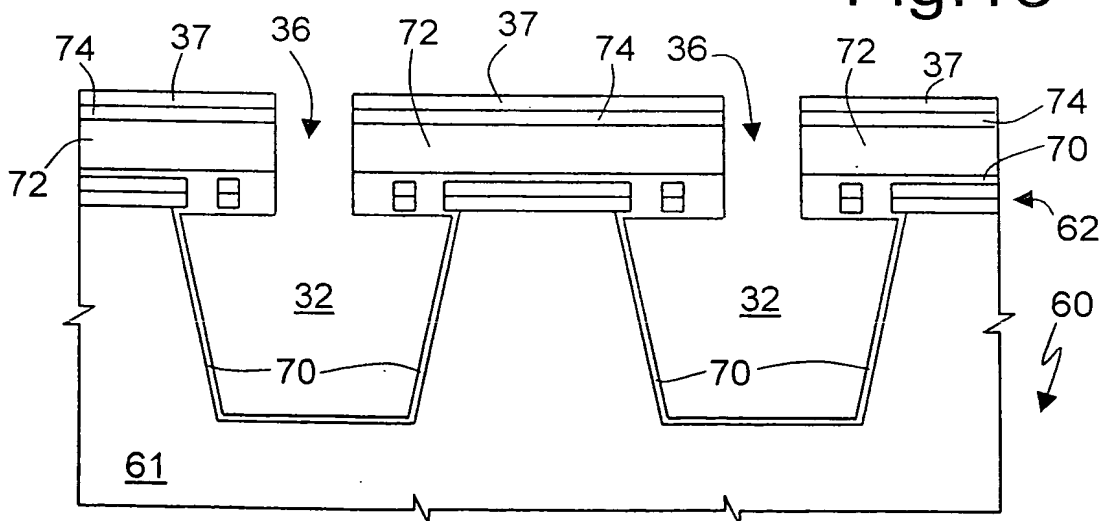


Fig. 19

W 2002 A00080g

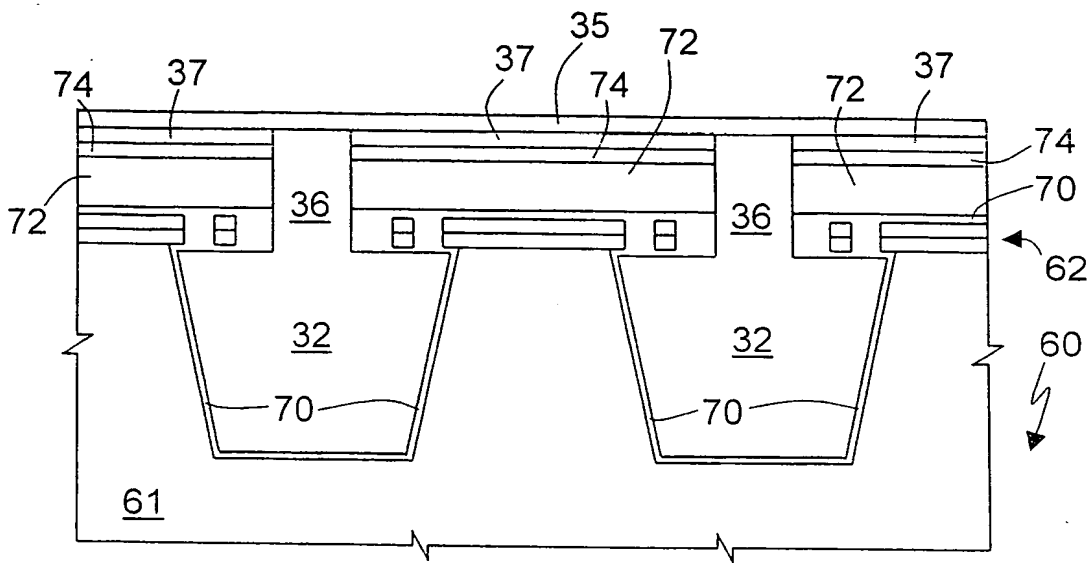


Fig.20

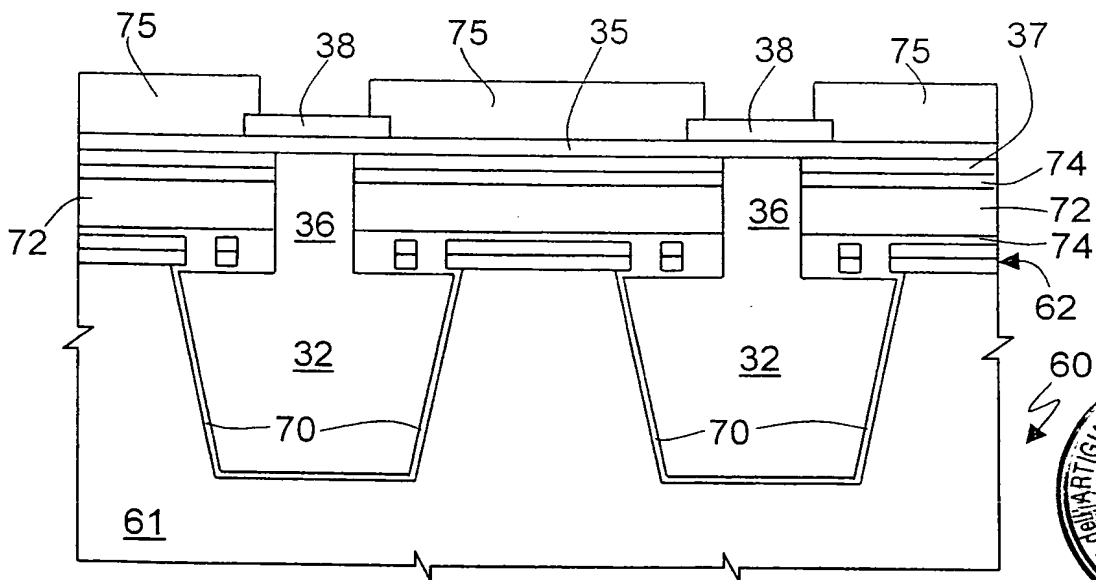


Fig.21

p.i.: STMICROELECTRONICS S.R.L.

CERVARO F.
(iscrizione Albo nr 426/BM)



MINISTRY OF INDUSTRY COMMERCE AND HANDICRAFT

GENERAL DEPARTMENT OF THE INDUSTRIAL PRODUCTION
ITALIAN PATENTS AND TRADEMARKS OFFICE

Authentication of copy of documents relating to patent application for industrial invention

No. T02002 A 000808

I do hereby declare that the annexed copy is true to the original documents filed with the patent application specified above, whose data appears from the filing statement enclosed herewith.

Rome, 11th NOV. 2003

The Director of the Division

signed: Dr. Paola GIULIANO

APPLICATION FOR PATENT FOR INDUSTRIAL INVENTION, FILING OF RESERVES, ADVANCED LAID OPEN TO THE PUBLIC INSPECTION

A. APPLICANT/S :

1) name/company **STMICROELECTRONICS S.r.l.** G.N. **SIR**
residence **AGRATE BRIANZA (MI)** code **00951900968**
2) name/company _____
residence _____ code _____

B. REPRESENTATIVE OF THE APPLICANT C/O CENTRAL PATENT OFFICE

surname name **CERBARO Elena et al** Tax code _____
name of company **STUDIO TORTA S.r.l.**
street **Viotti** no. **0009** city **TORINO** CAP **10121** prov **TO**

C. DOMICILE OF CHOICE OF THE

ADDRESS
street _____ no. _____ city _____ CAP _____ prov _____

D. TITLE

PROPOSED CLASS (section/class/subclass) _____

group/subgroup _____

INTEGRATED DEVICE FOR DNA ANALYSIS

ADVANCED LAID OPEN TO THE

PUBLIC INSPECTION:

YES ☐ NO ☐

IF REQUESTED: date _____ protocol no. _____

E. APPOINTED INVENTORS:

surname name surname name
1) **SCURATI Mario** 3) **PALMIERI Michele**
2) **MASTROMATTEO Ubaldo** 4) _____

F. PRIORITY:

nation or organisation	type of priority	appln number	filing date	enclosure YES/NO
1) _____	_____	_____	_____	<input type="checkbox"/>
2) _____	_____	_____	_____	<input type="checkbox"/>

RESOLUTION OF RESERVES

date _____ protocol no. _____

G. AUTHORISED COLLECTION CENTRE FOR MICRO-ORGANISM CULTURES (name)

H. SPECIAL REMARKS:

ENCLOSED DOCUMENTATION

No. of copies	pages no.	abstract with elected figure, specification and claims (1 copy compulsory)
Doc. 1) 2 provisional	3,2	
Doc. 2) 2 provisional	0,9	drawing (compulsory if cited in the specification, 1 copy)
Doc. 3) 1 follows		power of attorney, general power of attorney or reference to G.P.
Doc. 4) 1 follows		appointment of inventor
Doc. 5) <input type="checkbox"/> follows		priority documents with the Italian translation
Doc. 6) <input type="checkbox"/> follows		authorisation or assignment deed
Doc. 7) <input type="checkbox"/>		complete name of applicant

RESOLUTION OF RESERVES

date _____ protocol no. _____

compare each priorities

8) receipt of payment of Euro **Two hundred ninety one/80** COMPULSORY

COMPILED ON **17.09.2002** Applicant(s) signature(s) **Elena CERBARO**

CONTINUED YES/NO **N, O**

AN AUTHENTICATED COPY IS REQUIRED OF THE PRESENT ACT YES/NO **Y, E, S**

PROVINCIAL OFFICE OF TRADE, INDUSTRY AND HANDICRAFTS OF **TORINO** code **0, 1**

CERTIFICATE OF FILING: Application No. **T02002A000808**

Reg. A

In the year **TWOTHOUSANDTWO** on the **seventeenth** day of **September**

the above applicant(s) presented and signed the present application, composed of **0, 0** additional sheets for concession of the above described patent.

I. MISCELLANEOUS COMMENTS OF PRESIDING OFFICIAL:

THE APPLICANTS
Andrea CROVERI
On behalf of STUDIO TORTA S.r.l.

office
stamp

THE REGISTRAR
Daniela BESSOLO
Category B

Patent Number _____ Grant date _____

A. APPLICANT/S

name/company	STMICROELECTRONICS S.r.l.
--------------	---------------------------

residence | AGRATE BRIANZA (MI)

D. TITLE

INTEGRATED DEVICE FOR DNA ANALYSIS

Proposed class (section/class/subclass)

(group/subgroup)

L. ABSTRACT

An integrated device for DNA analysis having a support (10) and a first tank (8) for introducing a raw biological specimen includes at least one pre-treatment channel (17), an amplification chamber (21), and a detection chamber (24) carried by the support (10) and in fluid connection with one another and with the tank (8).

Figure 3

M. DRAWING

DESCRIPTION

OF the patent for Industrial invention

of STMICROELECTRONICS S.r.l.

Of Italian nationality,

with head office address at 20041 AGRATE BRIANZA (MILANO) - Via C. Olivetti, 2

Inventors: SCURATI Mario, MASTROMATTEO Ubaldo, PALMIERI Michele

17th SEP 2002

*** **

T02002A 000808

The present invention relates to an integrated device for DNA analysis.

5

As is known, the procedures that are currently used for reading segments of DNA involve the execution of various operations starting from specimens of raw biological material, for example, blood.

10

In particular, the specimen must initially be purified by mechanical filtration or electrostatically so as to eliminate all the non-nucleated cells, which are not useful for DNA analysis. Then, the nuclei of the cells remained in the purified specimen are broken up using a chemical a or thermal process in order to be able to take the segments of DNA to be analyzed (lysis of the nuclei). Next, the strands that make up the molecules of DNA are separated from one another by thermal cycling, or else by biochemical processes. Using a polymerase-chain-reaction (PCR) process, the specimens are then amplified, i.e., the DNA segments are multiplied and separated again into individual strands, which finally undergo analysis. In this step, the specimen containing the amplified and separated strands is made to flow on a detection device, which comprises a plurality of detectors made up of individual pre-selected strands of the type that are to be detected and are anchored on electrodes. If DNA strands that are complementary to the strands of the detectors are present, stable bonds are formed between them (hybridization). The hybridized detectors can be read by observation under the microscope or else electronically.

30

Normally, the steps of DNA analysis described above may be performed simply by using different devices, each of which presides over one part of the process. In other words, known equipment for DNA analysis comprises a number of devices that

35

are separate from one another so that the analyzed specimen must be transferred from one device to another once a given process step is concluded. At the most, equipments are known that are provided with integrated devices for carrying out the PCR and detection steps. In any case, then, it is necessary to provide removable microfluid connections between the different devices, as well as an external micropump for moving the specimen fluid.

10 The use of separate devices and removable microfluid connections involves, however, certain drawbacks. In fact, the micropump and the microfluid connections are difficult to make and are frequently the cause of leakage. Above all, membrane-type micropumps, which are the most commonly used ones, and
15 the valves associated to the micropumps are affected by poor tightness. Consequently, it is necessary to process a conspicuous amount of specimen fluid, since a non-negligible part thereof is lost. In practice, it is necessary to have available several milliliters of specimen fluid in order to
20 obtain a significant analysis. Other types of pumps, instead, such as servo-assisted piston pumps or manually operated pumps, present better qualities of tightness, but currently are not integratable on a micrometric scale.

25 The use of large amounts of specimen fluid is disadvantageous both on account of the cost and because the processing times, in particular the duration of the thermal cycles, are much longer. Very frequently, then, to the effective times for carrying out the different steps of the analysis it is
30 necessary to add dead times for transferring the support containing the specimen to be analyzed from one device to another. In these cases, qualified operators should also intervene, since handling of the specimens calls for a high specialization, and problems arise as regards protection and
35 conservation of the obtained intermediate product.

The aim of the present invention is to provide a device for DNA analysis that is free from the drawbacks described above.

According to the present invention, an integrated device for
5 DNA analysis is provided, as defined in claim 1.

For a better understanding of the present invention, there are now described some embodiments thereof, purely by way of non-limiting example, and with reference to the attached drawings,
10 wherein:

- Figure 1 is a three-quarter top perspective view of an integrated device according to a first embodiment of the invention;
- Figure 2 is a top plan view of the device of Figure 1;
- 15 - Figure 3 is a cross-section through the device of Figure 1, taken according to line III-III of Figure 2;
- Figure 4 is a top plan view of the device of Figure 1, sectioned along line IV-IV of Figure 3;
- Figure 5 is a enlarged scale view of a detail of Figure 3;
- 20 - Figure 6 is a bottom view of the detail illustrated in Figure 5, sectioned along line VI-VI of Figure 5;
- Figure 7 is a simplified circuit diagram of the device of Figure 1;
- Figure 8 is a top plan view of an integrated device
25 according to a second embodiment of the present invention;
- Figure 9 is a cross-section of the device of Figure 8, taken according to line IX-IX of Figure 8;
- Figures 10 to 13 are cross-sections through a semiconductor wafer in successive steps of a process for manufacturing a
30 first part of the device according to the present invention; and
- Figures 14 to 21 are cross-sections through a semiconductor wafer in successive steps of a process for manufacturing a second part of the device according to the present invention.

As illustrated in Figure 1, an integrated device for DNA analysis (Lab-On-Chip) designated, as a whole, by the reference number 1, comprises a microreactor 2 and a micropump 3. The microreactor 2 is carried on a printed-circuit board (PCB) 5 equipped with an interface 6 for connection to a driving and reading device (of a known type and not illustrated herein). In particular, input/output pins 7 of the microreactor 2 and of the micropump 3 are provided on the interface 6.

The microreactor 2 has a specimen tank 8 and a plurality of reagent tanks 9 (two, in the example illustrated), which are open on one face 2a opposite to the PCB base 5 and accessible from outside. The micropump 3 is hermetically seal-welded on the microreactor 2 (see also Figure 2).

With reference to Figures 3 and 4, the microreactor 2 comprises a first body 10 of semiconductor material, for instance, monocrystalline silicon, and, on top thereof, a first and a second base 11, 12 of silicon dioxide, and a containment structure 13 of polymeric material, for example SU-8. In turn, the containment structure 13 is coated with a protective plate 14, which is open at the specimen tank 8 and the reagent tanks 9. The protective plate 14 is made using a transparent material coated with a conductive film 14', also transparent, for example, of indium-tin oxide ITO. Alternatively, the protective plate 14 is of conductive glass. A hydraulic circuit 15 is defined inside the containment structure 13 and the first body 10. In greater detail, a pre-treatment channel 17, delimited laterally by the containment structure 13, at the top by the protective plate 14, and at the bottom by the first base 11, extends from the specimen tank 8, in the direction opposite to the micropump 3 substantially rectilinearly. Reagent channels 18 of preset length each connect a respective reagent tank 9 to the pre-treatment channel 17. Furthermore, at the outlet of the

reagent channels 18, respective mixing chambers 20 are defined. One end 17a of the pre-treatment channel 17, opposite to the specimen tank 8, is connected to an amplification channel 21, which is buried in the first body 10. In particular, the amplification channel 21 extends into the first body 10 underneath the pre-treatment channel 17 and ends into a detection chamber 24 formed in the containment structure 13 above the second base 12. A suction channel 26, which is also buried in the first body 10 and has an inlet into the detection chamber 24, extends underneath the micropump 3, and is connected to the latter via chimneys 23, as explained in greater detail hereinafter. In practice, the pre-treatment channel 17, the amplification channel 21, the detection chamber 24, and the suction channel 26 form a single duct through which a specimen of biological material to be analyzed is made to flow.

Stations for processing and analysis of the fluid are arranged along the pre-treatment channel 17 and the amplification channel 21; in proximity thereof sensors are provided for detecting the presence of fluid 22 and controlling advance of the specimen to be analyzed. In detail, two dielectrophoresis cells 25 are located in the pre-treatment channel 17 immediately downstream of the specimen tank 8 and, respectively, between the mixing chambers 20. The dielectrophoresis cells 25 comprise respective grids of electrodes 27 arranged above the first base 11 and forming electrostatic cages with respectively facing portions of the protective plate 14. The grid of electrodes 27 are electrically connected to a control device (of a known type and not illustrated) through connection lines (not illustrated either) and enable electric fields to be set up having an intensity and direction that are controllable inside the dielectrophoresis cells 25.

A heater 28 is arranged on the first body 10 above the amplification channel 21, is embedded in the first base 11 of silicon dioxide and enables heating of the amplification channel 21 for carrying out thermal PCR processes (see also
5 Figure 4).

Located downstream of the amplification channel 21 is the detection chamber 24, which, as mentioned previously, is formed in the containment structure 13 and is delimited at the
10 bottom by the second base 12 and at the top by the protective plate 14. An array of detectors 30, here of the cantilever type, is arranged on the second base 12 and can be read electronically. In addition, a CMOS sensor 31, associated to the detectors 30 and illustrated only schematically in Figure
15 3, is provided in the first body 10 underneath the detection chamber 24. In practice, then, a CMOS sensor 31 is connected directly to the detectors 30 without interposition of connection lines of any significant length.

20 The suction channel 26 extends from the detection chamber 24 underneath the micropump 3, and is connected top the latter by the chimneys 23.

The micropump 3, which for convenience is illustrated in
25 Figure 3 in a simplified way, is shown in detail in Figure 5. The micropump 3 comprises a second body 33 of semiconductor material, for example silicon, accommodating a plurality of fluid-tight chambers 32. In greater detail, the fluid-tight chambers 32 have a prismatic shape, extend parallel to each
30 other and to a face 34a of the second body 33, and have predetermined dimensions, as will be clarified hereinafter. In addition, the fluid-tight chambers 32 are sealed by a diaphragm 35 of silicon dioxide, which closes respective inlets 36 of the fluid-tight chambers 32 so as to maintain a
35 preset pressure value, considerably lower than atmospheric

pressure (for example, 100 mtorr). Preferably, the diaphragm 35 has a thickness of not more than 1 μm .

As illustrated in Figures 3 and 5, the inlets 36 of the fluid-tight chambers 32 are aligned to respective chimneys 23 so as to be set in fluid connection with the suction channel 26 once the diaphragm 35 has been broken. Furthermore, since the micropump 3 is hermetically bonded to the microreactor 2, the fluid-tight chambers 32 can be connected with the outside world only through the duct formed by the suction channel 26, the amplification channel 21, the pre-treatment channel 17, and the reagent channels 18.

The micropump 3 is then provided with electrodes for opening the fluid-tight chambers 32. In particular, a first activation electrode 37 is embedded in the diaphragm 35 and extends in a transverse direction with respect to the fluid-tight chambers 32 near the inlets 36 (see also Figure 6). In greater detail, the first activation electrode 37 is perforated at the inlets 36 so as not to obstruct the latter. Second activation electrodes 38 are arranged on a face of the diaphragm 35 opposite to the first activation electrode 37 and extend substantially parallel to the fluid-tight chambers 32. In addition, each second electrode 38 is superimposed to a first electrode 37 at the inlet 36 of a respective fluid-tight chamber 32, thus forming a plurality of capacitors 40 having respective portions of the diaphragm 35 as dielectric.

Figure 7 illustrates a simplified electrical diagram of the micropump 3 and of a control circuit 41. In practice, the first activation electrode 37 may be connected, via a switch 42, to a first voltage source 43, supplying a first voltage V_1 . Through a selector 44, the second activation electrodes 38 can be selectively connected to a second voltage source 45, which supplies a second voltage V_2 , preferably, of opposite sign to the first voltage V_1 . In this way, it is possible to

select each time one of the capacitors 40 and to apply to its terminals a voltage equal to $V_1 - V_2$ higher than the breakdown voltage of the diaphragm 35, which functions as a dielectric. Consequently, the corresponding fluid-tight chamber 32 is
5 selectively opened and set in fluid connection with the suction channel 26.

At the start of the DNA analysis process, a (fluid) specimen of raw biological material is introduced inside the specimen
10 tank 8, while the reagent tanks 9 are filled with respective chemical species necessary for the preparation of the specimen, for instance, for subsequent steps of lysis of the nuclei. In this situation, the inflow of the air from the outside environment towards the inside of the pre-treatment
15 channel 17, the reagent channels 18, and the amplification channel 21 is prevented.

Next, the micropump 3 is operated by breaking the portion of the diaphragm 35 that seals one of the fluid-tight chambers
20 32. In practice, by opening the vacuum cell 32, a negative pressure is created and then, after the air present has been suctioned out, the specimen and the reagents previously introduced into the tanks 8, 9 are suctioned along the duct formed by the pre-treatment channel 17, the reagent channels
25 18, the amplification channel 21, the detection chamber 24, and the suction channel 26. The mass of fluid moved and the distance covered depend upon the pressure value present in the fluid-tight chamber 32 before opening and upon the dimensions of the fluid-tight chamber 32. In practice, the first vacuum
30 cell 32 that is opened is sized so that the specimen will advance up to the dielectrophoresis cell 25 arranged at the inlet of the pre-treatment channel 17, and the reagents will advance by preset distances along the respective reagent channels.

After a first dielectrophoretic treatment has been carried out, the other fluid-tight chambers 32 of the pump 3 are opened in succession at preset instants so as to cause the specimen to advance first along the pre-treatment channel 17, and then along the amplification channel 21 up to the detection chamber 24. In practice, therefore, the micropump 3 is used as a suction pump that can be operated according to discrete steps. The specimen, whose advance is controlled also by the presence sensors 22, is prepared in the pre-treatment channel 17 (separation of the reject material in the dielectrophoresis cells 25 and lysis of the nuclei in the mixing chambers 20), and in the amplification channel 21, where a PCR treatment is carried out. Then, in the detection chamber 24, hybridization of the detectors 30 takes place, and the latter are then read by the CMOS sensor 31.

Figures 8 and 9 illustrate an integrated device 100 implemented according to a different embodiment of the invention and comprising a microreactor 102 and a micropump 103, which is similar to the micropump 3 of Figures 1 to 5. In this case, a containment structure 104 of SU-8 is formed directly on a PCB 105, which functions as support and is coated with a protective plate 106 having a conductive film 106' on which the micropump 103 is welded. The microreactor 102 comprises: a specimen tank 107 and a reagent tanks 108; a pre-treatment channel 110, which extends from the specimen tank 107 and ends into an amplification chamber 111; reagent channels 112, which connect a respective reagent tank 108 to the pre-treatment channel 110; a detection chamber 113, arranged downstream of the amplification chamber 111; and a suction channel 115, which extends from the detection chamber 113 and is connected to the micropump 103 through openings 116 formed in the protective plate 106. In addition, a read circuit 117 is carried on the PCB 105 outside the microreactor 102 in the proximity of the detection chamber 1.

Dielectrophoresis cells 119 are provided along the pre-treatment channel 110 and accommodate electrodes grid 120, which form electrostatic cages with the protective plate 106, and mixing chambers 121 are provided at outlet of the reagent channels 108. In addition, a heater 122 is arranged inside the amplification chamber 113. Preferably, a heat sink 123 is connected to the PCB 105 at the heater 55.

The detection chamber 113 comprises an array of detectors 125 similar to the ones already described, connected to the read circuit 117.

In the embodiment described, the electrode grids 120 of the dielectrophoresis cells 119, the heater 122, and the detectors 125 are directly printed on the PCB 105. The micropump 103 comprises a semiconductor body 127 accommodating fluid-tight chambers 128 sealed by a diaphragm 130 and having inlets 131 at respective openings 116 of the protective plate 106. The micropump 103 is then provided with a first activation electrode 133, embedded in the diaphragm 130 and extending transversely to the fluid-tight chambers 128, near the inlets 131, and with second activation electrodes 134 arranged on one face of the diaphragm 130 opposite to the first activation electrode 133 and extending substantially parallel to the fluid-tight chambers 128. In addition, each of the second activation electrodes 134 is arranged above the first activation electrode 133 at the inlet 131 of a respective fluid-tight chamber 128.

The integrated device according to the invention has numerous advantages.

First, all the processing stations necessary for preparation and analysis of the specimen of biological material are made on a single support (i.e., the first body 10 and the PCB 105) and are in permanent fluid connection with one another. In

particular, also the micropump is directly welded to the microreactor. Thereby, there is no more the need, at the moment of analysis, for connecting devices made on different supports by means of microfluid connections and for handling
5 the specimen of biological material in intermediate steps of the process. Consequently, all the leakages of specimen fluid, which afflict traditional apparatus and which are normally due to imperfect fluid tightness and/or to evaporation, are eliminated. As a result, minimal amounts of raw biological
10 material are sufficient, i.e., of the order of microlitres or even nanolitres. Clearly, the use of smaller amounts of specimen fluid affords an advantageous reduction both in costs and in treatment time (shorter thermal cycles). In addition, since the device according to the invention carries out
15 preparation, analysis, and moving of the specimen fluid, it is possible to perform DNA analyses even outside of specialized environments or in the absence of qualified personnel.

The device according to the invention may also be manufactured
20 at a low cost and is therefore suitable for being used as a disposable product.

Particularly advantageous is the first embodiment (described with reference to Figures 1 to 6) for at least two reasons. On
25 the one hand, in fact, in the amplification channel 21, the high thermal conductivity of silicon is exploited, which enables steep and precise temperature profiles to be imposed during the PCR process. On the other hand, the CMOS sensor 31 can be provided in the immediate vicinity of the detectors 30,
30 practically without using connection lines or with lines of negligible length. It is known that electronic reading of the hybridized detectors may be based upon different quantities; for example, it is possible to detect variations in capacitance, as in the example described, in impedance, or in
35 other electrical quantities. In addition, reading can be carried out according to different modalities: continuous,

dynamic, or by a sweep of variable and controlled frequencies. In all cases, however, very small variations need to be detected. In order to reduce any possible causes of distortion to a minimum, it is therefore extremely important for the read
5 circuit (the CMOS sensor, in the example described) to be as close as possible to the detectors.

On the other hand, the second embodiment of the invention described enables even simpler and more inexpensive integrated
10 devices to be built.

Additional advantages derive from the use of the vacuum micropump. First, the micropump is welded in a hermetically sealed way to the microreactor and, consequently, is not
15 subject to leakage. Furthermore, the micropump has no moving parts and does not interact directly with the specimen fluid, so preventing any possible chemical reactions. The micropump is then able to move the specimen fluid in a single direction without the aid of valves and to cause it to advance at each
20 step by a preset distance.

Both the microreactor 2 and the micropump 3 can then be implemented in a simple way. In particular, a process for manufacturing the microreactor 2 is illustrated hereinafter
25 with reference to Figures 10 to 13.

Initially, the CMOS sensor 31 is formed in a substrate 51 of a semiconductor wafer 50, using known processing steps. Next, the amplification channel 21 and the suction channel 26,
30 buried in the substrate 21, and the chimneys 23 are formed.

Next (see Figure 11), after depositing a polysilicon germ layer (not illustrated here), an epitaxial layer 52 is grown and oxidized on the surface. Then a pad oxide layer 53 is
35 formed, and the heater 28 is deposited thereon. The substrate

51 and the epitaxial layer 53 in practice form the supporting body 10 of the microreactor 2.

Next (see Figure 12), a thick layer of silicon dioxide is deposited and defined so as to form the first base 11 and the second base 12, on which the electrodes 27 and the detectors 30 are formed. The containment structure 13 is then formed and delimits the pre-treatment channel 17 and the detection chamber 24. In particular, in this step, a polymeric material layer 13', in this case SU-8, is deposited on the wafer 50 and then defined.

Then, the body 10 is etched to open up an access to the amplification channel 12 and to the chimneys 23, as illustrated in Figure 13.

After bonding of the micropump 3, the detectors 30 are functionalized, i.e., pre-selected segments of DNA, complementary to the ones that are to be analyzed, are anchored. Finally, the protective wafer 14 is bonded over the containment structure 14 and is selectively etched to open up the specimen tank 8 and the reagent tanks 9. Alternatively, the protective plate 14 may be made up of two parts, which are applied for closing the pre-treatment channel 17 and the detection chamber 24, respectively before and after functionalization of the detectors 30.

Thereby, the structure represented in Figure 3 is obtained. The method described enables convenient creation of channels on two different levels arranged one above the other (the pre-treatment channel 17, at the more external level, and the amplification channel 21 and the suction channel 26, at the more internal level). The structure thus obtained is compact and of small size.

The micropump may, instead, be formed following the process illustrated hereinafter with reference to Figures 14 to 21.

A hard mask 62, comprising a silicon
5 dioxide layer 63 and a silicon nitride layer 64, is initially formed on a semiconductor wafer 60 having a substrate 61. The hard mask 62 has groups of slits 65, which are substantially rectilinear and are arranged parallel to one another. The substrate 61 is then etched using tetramethylammoniumhydroxide
10 (TMA) and the fluid-tight chambers 32 are dug through respective groups of slits 65.

Next (see Figure 11), a polysilicon layer 68 is deposited and coats the surface of the hard mask 62 and the walls 32a of the
15 fluid-tight chambers 32. In addition, the polysilicon layer 68 incorporates portions 62a of the hard mask 62, suspended after formation of the fluid-tight chambers 32. The polysilicon layer 68 is then thermally oxidized (see Figure 12) so as to form a silicon dioxide layer 70, which grows also outwards and
20 closes the slits 65.

After depositing a germ layer 71 of polysilicon (see Figure 13), an epitaxial layer 72 is grown and thermally oxidized on the surface so as to form an insulating layer 74 (see Figure
25 14). An aluminum strip is then deposited on the insulating layer 74 and forms the first activation electrode 37.

Then, an STS etch is performed. As illustrated in Figure 15, in this step the first activation electrode 37, the insulating
30 layer 74, the epitaxial layer 72 and the hard mask 62 are perforated, and the inlets 36 of the fluid-tight chambers 32 are defined, thus opening again the fluid-tight chambers 32.

By depositing silicon dioxide at low pressure (for example,
35 100 mtorr), the diaphragm 35 is then formed, which incorporates the first activation electrode 37 and seals the

fluid-tight chambers 32 (see Figure 16). Consequently, the pressure imposed during deposition of the diaphragm 35 is maintained inside the fluid-tight chambers 32.

5 Next, by a new aluminum deposition, the second activation electrodes 38 are formed, and a protective resist layer 75 is then formed and open above the second activation electrodes 38 (see Figure 17).

10 Finally, the semiconductor wafer 60 is cut so as to obtain a plurality of dice, each containing a micropump 3, which is bonded to a respective microreactor 2. Thereby, the structure illustrated in Figures 3 and 5 is obtained.

15 Finally, it is clear that modifications may be made to the integrated device described herein, without departing from the scope of the present invention.

For example, the microreactor may comprise a different number
20 of dielectrophoresis cells and/or mixing chambers. In the second case, also the number of reagent tanks and of the respective reagent channels is different from what illustrated. In particular, the number and succession of the dielectrophoresis cells and of the mixing chambers depends
25 upon the type of treatment to which the specimen fluid is to be subjected. In addition, the microreactor 2 may comprise more than one heater for carrying out different thermal treatment steps (for instance, thermal lysis of the nuclei, instead of lysis via a biochemical process). Also the CMOS
30 sensor could be made in a different way. For example, it could be manufactured separately, on a dedicated semiconductor chip and then bonded on the body of the microreactor.

Also the micropump may comprise a different number of fluid-
35 tight chambers according to the number of steps required by the treatment. The fluid-tight chambers may differ also as

regards their shape, dimensions, and arrangement. In particular, the fluid-tight chambers may be arranged according to a matrix array. In this case, the micropump may comprise a plurality of first electrodes 37 (up to the number of rows of
5 the matrix) and a row selector, similar to the selector illustrated in Figure 7 for selective connection of one of the first electrodes 37 to the first voltage source 43.

Finally, the microreactor may be coupled to a micropump based
10 upon a different operating principle as compared to the one described herein.

CLAIMS

1. An integrated device for analysis of DNA having a support (10; 48) and a first tank (8; 107) for introducing a raw biological specimen, characterized by at least one pre-treatment channel (17; 110), an amplification chamber (21; 111), and a detection chamber (24; 113) carried by said support (10; 105) and in fluid connection with each other and with said tank (8; 107).
2. The device according to claim 1, characterized in that said pre-treatment channel (17; 110) comprises at least one dielectrophoresis cell (25; 119).
3. The device according to claim 1 or 2, characterized by at least one second tank (9; 108) for introducing reagent species and in that said pre-treatment channel (17; 110) comprises at least one mixing chamber (20; 121) in fluid connection with said second tank (9; 108).
4. The device according to any one of the preceding claims, characterized in that said support is a first body (10) of semiconductor material.
5. The device according to claim 4, characterized in that said amplification chamber (21) comprises a buried channel formed inside said first body (10).
6. The device according to claim 4 or 5, characterized by a detection circuit (31) associated to said detection chamber (24) and formed inside said first body (10).
7. The device according to any of claims 1 to 3, characterized in that said support is a printed-circuit board (PCB) (105).
8. The device according to any one of the preceding claims, characterized in that said pre-treatment channel (107; 110) is

formed above said support (10; 105) and is delimited laterally by a containment structure (13; 104) and on top by a protective plate (14; 106), which covers said containment structure (13; 104).

5

9. The device according to claim 8, characterized in that said containment structure (13; 104) is of polymeric material.

10. The device according to claim 8 or claim 9, characterized in that said protective plate (14; 106) comprises a conductive layer.

11. The device according to claim 10, characterized in that said detection chamber (24; 113) is laterally delimited by said containment structure (13; 104) and is coated by said protective plate (14; 106).

12. The device according to claim 11, characterized in that said protective plate (14; 106) is of a transparent material.

20

13. The device according to claim 12, characterized in that said protective plate (14; 106) is of conductive glass.

14. The device according to any one of claims 10 to 13, characterized in that said dielectrophoresis cell (25; 119) comprises an electrode grid (27; 120) forming an electrostatic cage with said protective plate (14; 106).

15. The device according to any one of the preceding claims, characterized by a micropump (3; 103).

30

16. The device according to claim 15, characterized in that said micropump (3; 103) is a vacuum pump.

17. The device according to claim 15 or 16, characterized in that said micropump (3; 103) comprises a second body (33; 127)

35

of semiconductor material accommodating fluid-tight chambers (32; 128) set at a preset pressure and connectable to said detection chamber (24; 113).

5 18. The device according to claim 17, characterized by a suction channel (26; 115) connecting said detection chamber (24; 113) to said micropump (3; 103).

10 19. The device according to claim 17 or 18, characterized in that said fluid-tight chambers (32; 128) are sealed by a diaphragm (35; 130) openable electrically.

15 20. The device according to claim 19, characterized in that said diaphragm (35; 130) has a thickness not greater than 1 μm .

20 21. The device according to claim 19 or 20, characterized in that said micropump (3; 103) comprises electrical-opening means (37, 38; 133, 134) for opening said diaphragm (35; 130).

22. The device according to claim 21, characterized in that said electrical-opening means (37, 38; 133, 134) comprise at least one first electrode (37; 133) and, for each fluid-tight chamber (32; 128), a respective second electrode (38; 134),
25 said diaphragm (35; 130) being arranged between said first electrode (37; 133) and a respective one of said second electrodes (38; 134) near an inlet (36, 131) of each said fluid-tight chamber (32; 128).

30 23. The device according to claim 21 or 22, characterized by a first voltage source (43), connectable to said first electrode (37) of said micropump (3) and supplying a first voltage (V_1), and a second voltage source (45) selectively connectable to one of said second electrodes (38) of said micropump (3) and
35 supplying a second voltage (V_2).

24. A process for manufacturing an integrated device for DNA analysis, comprising the steps of:

- forming at least one first channel (21) inside a body (10) of semiconductor material; and
- 5 - forming at least one second channel (17) on top of said body (10), said second channel (17) being at least partially arranged on top of said first channel (21).

25. The process according to claim 24, in which said step of forming at least one second channel (17) comprises the steps of:

- depositing a polymeric material layer (13') on top of said body (10); and
- defining said polymeric material layer (13') so as to form a
- 15 containment structure (13) delimiting said second channel (17).

26. The process according to claim 25, comprising, before said step of forming at least one second channel (17), the steps of:

- depositing a heater (28) on top of said body;
- forming, on top of said body, a first base (11) incorporating said heater (28), and a second base (12); and
- depositing electrodes (27) on top of said first base (11)
- 25 and detectors (30) on top of said second base (12).

27. The process according to claim 26, wherein said step of defining said polymeric material layer (13') comprises forming a chamber (24) around said detectors and in fluid connection

30 with said first channel (21).

28. The process according to claim 27, comprising the steps of:

- functionalizing said detectors (30); and
- 35 - closing said chamber (24) with a protective plate (14).

29. The process according to claim 28, wherein said protective plate (14) is transparent.

30. The process according to claim 28 or 29, wherein said
5 protective plate (14) is conductive.

31. An integrated device for DNA analysis, substantially as described with reference to the attached figures.

On behalf of STMICROELECTRONICS S.r.l.
Signed Elena CERBARO
(Enrolled in the roll under no.426/BM)